UNIVERSITE DE STRASBOURG - FACULTE DE PHARMACIE

Année scolaire 1960-1961 N° 808

ÉTUDE D'UN CANDIDA RESPONSABLE D'UNE ORCHI-EPIDIDYMITE GRANULOMATEUSE PSEUDO-TUMORALE

(Candida triadis, Langeron et Guerra, var. E. Blum)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 8 mai 1961
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(Mention : Pharmacie)

par

Leïla WALTER
Pharmacien
Diplômé de Sérologie

Examinateurs de la Thèse : MM. R. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Professeur
J. MEYER, Maître de conférences
} Juges

IMPRIMERIE FABRÈGUE
SAINT-YRIEIX
1961

UNIVERSITE DE STRASBOURG - FACULTE DE PHARMACIE

Année scolaire 1960-1961 N° 808

ÉTUDE D'UN CANDIDA RESPONSABLE D'UNE ORCHI-EPIDIDYMITE GRANULOMATEUSE PSEUDO-TUMORALE

(Candida triadis, Langeron et Guerra, var. E. Blum)

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 8 mai 1961
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
(Mention : Pharmacie)

par

Leïla WALTER
Pharmacien
Diplômé de Sérologie

Examinateurs de la Thèse : MM. R. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Professeur
J. MEYER, Maître de conférences
} Juges

IMPRIMERIE FABRÈGUE
SAINT-YRIEIX

1961

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION :

MM. DUQUÉNOIS, *Doyen*, ✲, I. ⁂, ❀
GAZET DU CHATELIER, *Assesseur*, I. ⁂
CLADY, *Secrétaire*, I. ⁂

DOYEN HONORAIRE :

M. VOLMAR, O. ✲, C. ⁂

PROFESSEURS :

MM.	LAPP, ✲, I. ⁂	Physique
	SARTORY, O. ✲, I. ⁂, O. ❀	Bactériologie
	CORDIER, ✲, I. ⁂	Pharmacie chimique
	DUQUÉNOIS, ✲, I. ⁂, ❀	Matière médicale
	JAEGER, I. ⁂, ❀	Botanique
	GAZET DU CHATELIER, I. ⁂	Pharmacie galénique
	HASSELMANN, I. ⁂	Chimie analytique
	SCHREIBER, I. ⁂	Chimie organique
	EBEL, ✲, ❀, I. ⁂	Chimie biologique

MAITRES DE CONFERENCES :

MM.	LEDOUX, ❀, ⁂		Sciences naturelles
	MÉTAIS	(chargés des fonctions)	Sciences appliquées
	MALGRAS		Sciences naturelles
	LAUSTRIAT		Sciences physico-chimiques

MAITRE DE CONFERENCES HONORAIRE :

M. COLLARD

COURS COMPLEMENTAIRES :

MM.	LAPP	Acoustique
	SARTORY	Cryptogamie
	CORDIER	Eléments de chimie organique
	DUQUÉNOIS	Hydrologie
	GAZET DU CHATELIER	Pharmacodynamie
	HASSELMANN	Chimie minérale
	SCHREIBER	Chimie générale
	EBEL	Biochimie analyt. et séméiolog.
	LAVIGNE	Législation et Déontologie pharmaceutiques
	LEDOUX	Bactériologie pharm. et techn.
	MALGRAS	Sérologie
	LAUSTRIAT	Minéralogie et Eléments de mathématiques
	C. MEYER	Comptabilité et fiscalité pharmaceutiques

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES :

M.	MALGRAS		Bactériologie
Mme	KRISTENSEN		Chimie pharmaceutique
MM.	LAUSTRIAT		Chimie et Physique
	MATHIS	(chargés des fonctions)	Chimie
	CARBIENER		Histoire naturelle
	STAHL		Bactériologie et Parasitologie

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Au Président du Jury de ma Thèse,

Monsieur R. SARTORY

Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

A mes Juges,

Monsieur P. CORDIER

Professeur de Pharmacie Chimique
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Monsieur J. MEYER,

Ancien Maître de Conférences d'Hygiène et de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

A Messieurs les Docteurs

E. BLUM et A. BATZENSCHLAGER

de la Faculté de Médecine de Strasbourg

grâce à qui ce travail a pu être élaboré et mené à bien.

A Monsieur G. HIRTZ, *Docteur en Pharmacie,*

qui a bien voulu faire pour nous les microphotographies qui illustrent notre travail.

Hommage de sincère reconnaissance.

A mes Parents,

à qui je dois plus que je ne saurais dire, en faible témoignage de mon amour filial.

A mes Frère et Sœurs,

A Madame A. Kurtz, ma Marraine,

Avec toute mon affection

INTRODUCTION

L'évolution de la mycologie a commencé dans la seconde moitié du XIX[e] siècle et ceci surtout par les travaux de EHRENBERG qui a découvert le mode de reproduction des Champignons, et par ceux de DUTROCHET qui a démontré que l'appareil fructifère des Champignons inférieurs provenait de la germination d'une spore unique.

Entre 1860 et 1370 se situent surtout les travaux sur *les parasites mycosiques des plantes supérieures;* il faut mentionner ici l'œuvre des frères TULASNE et DE BARY sur les rouilles. KUHN a publié en 1868 le premier traité de phytopathologie, et PRILLEUX a découvert les *mycorhizes des Orchidées*, étudiées par la suite par Noël BERNARD.

La systématique des Champignons inférieurs s'est développée sous l'impulsion de HARTIG, BREFELD, SACCARDO, F. SMITH, RABENHORST, CONSTANTIN, etc., tandis que les travaux de VUILLEMIN, SABOURAUD, HEIM, MAUBLANC, HANSEN, FELDMANN, etc., ont fait faire des progrès à la taxonomie.

Viennent ensuite, vers le début du XX[e] siècle, les recherches de DANGEARD, GUEGUEN, René MAIRE, GUILLERMOND, MANGENOT, SARTORY, LUTZ, BLAKESLEE, DE BEURMANN, GOUGEROT, SCHOPFER, etc., sur les problèmes de la *sexualité*, de la *cytologie* et de la *parasitologie animale et humaine des Champignons inférieurs.*

Il n'est pas étonnant qu'à la même époque on appliquât aux Champignons inférieurs les connaissances sur l'antagonisme connu depuis fort longtemps chez des êtres vivants et expliqué par la loi finaliste : « *Tout s'entre-dévore dans la nature* ».

Dès 1877, PASTEUR et JOUBERT ont mentionné à l'Académie des Sciences : « Chez les êtres inférieurs plus encore que dans les grandes espèces animales ou végétales, la vie empêche la vie. » Ce phénomène a été désigné par le nom *d'antibiose* et a fait l'objet de nombreuses études concernant l'antagonisme entre les bactéries et les champignons. Il faut mentionner à ce sujet les travaux de *l'école italienne* avec GASPARINI, sur *les Streptothrix* du sol, ceux du Lyonnais DUCHÊNE relatant *l'antagonisme entre moisissures et bactéries*, puis les recherches de VAUDREMER sur *l'action antibiotique de Penicillium glaucum, Aspergillus niger et fumigatus.*

Viennent ensuite, en 1924, les découvertes de GRATIA et SARADATH sur une méthode de sélection de *micro-organismes antibiotiques*, aboutissant à l'isolement de nombreux *Actinomyces*. Les bases étaient ainsi posées pour les grands travaux de A. FLEMING, de FLOREY et CHAIN, de WAKSMAN, etc., qui ont ouvert l'ère des antibiotiques.

Cependant, *la thérapie antibiotique*, qui constitue un progrès immense dans le traitement des maladies humaines et animales, n'est pas sans revers, puisque dans certains cas elle favorise le développement de *la flore cryptogamique au détriment des bactéries*, occasionnant alors des mycoses internes ou des manifestations allergiques cutanées qui peuvent avoir des conséquences graves.

Ainsi, la *Commission Interne de Pharmacie et de Chimie de l'American Association* a exigé des laboratoires fabriquant des antibiotiques qu'ils mentionnent le danger de ces complications sur leurs prospectus. *En France*, ces accidents ne sont pas moindres, comme le rapportent PESLE et LABÈGUERIE, ainsi que DE GRACIANSKY et DELAPORTE, dans l'ouvrage desquels on trouve une bibliographie assez abondante illustrant tout l'intérêt qu'a suscité ce problème. Ces accidents ont deux aspects principaux : le problème de *la pathologie générale*, envisageant dans quelles conditions et sous quelles influences un germe initialement saprophyte devient pathogène; le problème de la *thérapie antifongique*, des infections superficielles et internes, qui est devenu un sujet de grande actualité.

Nous aurons l'occasion d'étudier *un cas de mycose interne de l'appareil uro-génital* où il pourrait s'agir d'une infection secondaire due à l'antibiothérapie, ou d'une infection ascendante à porte d'entrée urétrale.

On sait que *les Blastomycoses internes* et en particulier *les Moniliases et autres infections levuriformes* prêtent encore à des discussions sur la pathogénéité de ces organismes. BENEDEK (1) émet à ce sujet l'opinion suivante :

« Au seuil du deuxième siècle de *la science mycologique*, il nous faut rompre avec la tendance de voir dans chaque isolement de champignon une infection mycosique. Pour éviter cette erreur, il faut surtout prendre en considération l'examen histologique et histobactériologique, puisqu'on peut faire valoir pour les infections mycosiques les mêmes lois que pour les protozoaires, bactéries et même virus; la preuve certaine de l'étiologie d'un micro-organisme ne peut être donnée que sur une base morphologique, c'est-à-dire par l'identification de l'agent infectieux dans la coupe histologique de l'organe atteint. »

L'auteur mentionne divers exemples de diagnostic erroné qui devraient faire éviter la conclusion trop hâtive : « *Champignon = Mycose* ».

Cette même question a fait l'objet d'une séance de *la Société Française de Mycologie Médicale*, où DESTOMBES (2) insiste sur le fait que l'histologie est fondamentale dans l'étude des *mycoses*, mises à part les *épidermophyties*.

Nous avons pu étudier cette mycose testiculaire au point de vue *anatomo-pathologique, histobactériologique et sérologique;* il s'agit d'un cas

qui nous semble très intéressant, parce que extrêmement rare et pouvant élucider différents problèmes des mycoses internes.

Avant d'entrer dans le vif du sujet, qu'il nous soit permis de remercier ici Monsieur R. SARTORY, *Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg;* après nous avoir accueilli si aimablement dans son laboratoire, il nous fait le grand honneur de présider notre Jury. Nous ne saurions oublier ici de rappeler la grande et sincère amitié qui le lie à mon père du temps de leurs études.

Nous remercions également Monsieur P. CORDIER, *Professeur de Pharmacie Chimique à la Faculté de Médecine de Strasbourg*, pour la gentillesse avec laquelle il a accepté de siéger dans ce jury.

Toute notre gratitude va à Monsieur J. MEYER, *Ancien Maître de Conférences d'Hygiène et de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.* Après avoir été l'instigateur de ce travail, il nous a guidé au cours de son élaboration avec toute sa compétence, et ses conseils avisés nous ont permis de le mener à bien.

Nous ne voudrions pas manquer non plus de remercier bien sincèrement Monsieur J. MALGRAS, Chargé de Cours, chez qui nous avons trouvé aussi aide et conseils pour l'élaboration de la partie sérologique de notre travail. Nous donnons ici une pensée amicale aux *Assistants du Service de Bactériologie, à tous nos camarades d'études de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg* et à Monsieur Auguste BURGER, dont l'aide souriante nous a été si souvent utile.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550011_0012

PLAN DU TRAVAIL

Ayant eu l'occasion d'isoler et d'étudier un germe levuriforme agent d'*une orchi-épididymite granulomateuse*, nous décrivons dans *la partie historique de notre travail les infections essentielles à Candida*, puis nous donnons dans le Chapitre II *la systématique moderne* de ces germes levuriformes.

Nos travaux personnels se répartissent dans trois chapitres, dont *le premier* relate les observations cliniques du cas *d'orchi-épididymite granulomateuse pseudo-tumorale.*

Le Chapitre IV a trait à la caractérisation de *l'agent levurien* responsable de ce granulome testiculaire. Nous donnons les techniques d'isolement et étudions ensuite *l'aspect morphologique, microscopique et cultural* de ce germe. Nous nous sommes arrêté longuement à *l'étude biochimique* de notre organisme, en envisageant le *zymogramme, l'auxanogramme des sucres, de l'azote, de l'alcool et de l'arbutine; les propriétés enzymatiques* sont étudiées au point de vue des métabolismes protidique et glucidique.

Le Chapitre V est consacré à *l'étude immunologique de la Candidose.* Nous préparons un immunsérum de lapin que nous utilisons pour la réaction de déviation du complément et l'agglutination. Les mêmes expériences sont effectuées au moyen du sérum du malade.

Des Conclusions générales terminent notre exposé.

PREMIERE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE I

LES INFECTIONS A CANDIDA

Ces infections sont désignées en clinique par le terme de *Moniliases;* on peut les classer en *Moniliases primaires et secondaires.* Parmi les premières, il faut surtout citer les lésions pharyngées. Les angines, dues aux germes levuriformes, revêtent d'habitude un caractère aigu, mais peuvent également évoluer vers les stades chroniques. Dans le premier cas, il s'agit d'angines du type folliculaire caractérisées par la présence de points blancs, grisâtres ou jaunâtres, ou encore d'amas granuleux répandus à la surface des deux amygdales. L'infection peut s'étendre à la luette et au voile du palais en formant des taches blanches rappelant *les angines pseudo-membraneuses.* Habituellement le malade présente une grosse gêne de déglutition avec fièvre pouvant atteindre 40°. La guérison spontanée est rare et la maladie peut simuler *la diphtérie.* C'est pour cette raison que l'analyse microbiologique est d'une importance capitale pour le diagnostic différentiel.

Les prélèvements bucco-pharyngés montrent de nombreuses cellules levuriennes et les différents milieux employés couramment en mycologie donnent habituellement des cultures presque pures *de levures des genres Candida* ou *Ctenomyces.*

Potier (3) a décrit quelques cas de *Moniliase primaire dans l'Allier, le Cantal, la Haute-Loire et le Puy-de-Dôme.* L'infection touche aussi bien les enfants que les adultes. Les lésions siègent surtout sur la muqueuse buccale, mais peuvent s'étendre à l'épiglotte, aux cordes vocales inférieures et même aux alvéoles pulmonaires. La trachée est rarement le siège de

cette affection. POTIER signale, à côté de nombreux cas à lésions superficielles, deux cas où *le Candida* avait pénétré dans le tissu sous-muqueux et a même pu être décelé dans la lumière d'un vaisseau. On voit ainsi que l'infection peut se généraliser, comme le citent, parmi d'autres, ZENKER, RIEBERT, SCHORL, HELLER, MONNIER, SARTORY et DEMANCHE (4).

Dans les cas de *Moniliase primaire publiés en France* par SARTORY, PETGÈS et CLAOUÉ. les lésions siégeaient sur les bords libres de l'épiglotte et la surface supérieure des cartilages aryténoïdes, formant des laryngites chroniques. Les auteurs y ont isolé *Cryptococcus laryngitidis* et *Saccharomyces membranogenes.*

Les blastomycoses des bronches et des poumons du type Castellani sont surtout fréquentes sur *le continent américain.*

Quant aux infections levuriformes siégeant au niveau de l'abdomen, nous en citons deux cas, l'un étudié par CORSELLI et FRISCO dû à *Cryptococcus corsellii*, l'autre étudié par BLANCHARD. SCHWARTZ et BINOT. dû à *Saccharomyces blanchardi.*

D'autres Moniliases peuvent avoir leur siège au niveau *du tube digestif.* et nous mentionnons à ce sujet les travaux de A. SARTORY, qui a pu isoler dans ces lésions *Cryptococcus salmoneus, Candida albicans et Cryptococcus rogeri.* Dans un cas de dyspepsie chronique, WETTSTEIN a signalé un organisme *Monilia kochii.* rangé depuis dans le groupe *des Candida. Les auteurs anglo-saxons* ont surtout décrit des Moniliases de l'intestin, et nous citons comme exemple ASHFORD, qui a caractérisé *Monilia (Candida) psillosis* dans les selles et dans le sang des malades.

Quand aux *Moniliases primaires de l'appareil uro-génital* qui nous intéressent tout particulièrement. les premiers travaux datent de 1876; ils ont été effectués par HAUFMAN et concernent surtout les vaginites. *En France.* QUEYRAT et LAROCHE ont décrit des vulvo-vaginites, signalées également dans *les Pays-Bas et en Amérique.* Suivant les symptômes, on peut signaler deux formes principales :

1° *La vulvo-vaginite pseudo-membraneuse,* siégeant sur les lèvres et la muqueuse vaginale;

2° *La forme purulente,* caractérisée par une sécrétion purulente épaisse, rappelant l'écoulement blennorragique et due à *Candida albicans. Monilia (Candida) alba* et à *des Candida du type tropicalis. pinoyï ou vaginalis.*

D'autres Moniliases primaires ont été signalées au niveau de la verge. de l'épididyme ou encore de la vessie. Ainsi NEGRONI signale en 1929 un cas dû à *Saccaromyces annulatus* (*S. villianus*).

Pour terminer. on peut signaler des blastomycoses primaires du *système nerveux et des organes des sens,* au sujet desquelles nous renvoyons à *l'Encyclopédie Médico-Chirurgicale* (maladies infectieuses).

Pour les *Moniliases secondaires,* il faut envisager différentes catégories suivant la gravité de l'infection. Les accidents secondaires dus à l'antibiothérapie peuvent présenter une évolution très sévère allant quelquefois jusqu'à la septicémie. DE GRACIANSKY et DELAPORTE (5) écrivent à ce sujet :

« La propagation par contiguïté déjà décrite par PARROT peut s'observer sans antibiotique : telles se présentent les observations de LELONG, de HILLEMAND avec atteinte nette de l'œsophage. »

Les urétrites d'origine mycosique sont relativement rares dans la littérature médicale. Le premier cas a été publié en 1925 par FREI *et ses collaborateurs* qui ont poursuivi leurs travaux jusqu'en 1929. La même année CASTELLANI a donné une bonne classification de ces maladies et, eu égard à l'agent causal, il différencie les *urétrites à levures, à Nocardia, à Candida, à Aspergillus et à Hœmosporidia.*

Dans les années suivantes, FERRADA *et son école*, ainsi que COUTIS *et ses collaborateurs* ont publié de nouveaux cas. Le champignon responsable était variable : *Candida albicans* a été le plus souvent trouvé, tandis que *les Penicillium, les Levures non pigmentées, les Rhodotorula, Aspergillus, Nocardia, Hœmosporidia, Cryptococcus, Sporotrichum, Achorion. Monilia tropicalis* ne l'ont été que très rarement. La propagation du processus infectieux dans les tissus environnant la prostate a été observée. La littérature spécialisée ne mentionne que quelques rares cas de *blastomycose génito-urinaire et les urétrites blastomycosiques et actinomycétiques* sont extrêmement rares.

Tout récemment, HARKNESS a consacré un chapitre à ce problème dans son excellent ouvrage, mais un travail publié par AUCKLAND et PRESTON affirme qu'il a sous-estimé la gravité de ce problème. Ces derniers auteurs ont trouvé *des éléments fongiques dans l'urètre, la prostate, les sécrétions* cervicales ou l'urine chez 5 % d'hommes et 11,6 % de femmes de la « *VD Clinic* » *de Manchester.* Pour les hommes l'âge variait entre 16 et 60 ans, sans qu'on puisse cependant fixer un âge limite. Environ 40 % d'entre eux avaient reçu un traitement antibiotique, pour des raisons connues ou inconnues. Les symptômes peuvent s'étendre sur quelques semaines ou sur plusieurs années et environ 55 % des malades ont eu une ou plusieurs rechutes. La sécrétion est d'aspect muqueux, blanchâtre, jaunâtre, ou, rarement, verdâtre. Dans des cas extrêmement rares où l'agent causal est un *Cryptococcus à pigment rouge*, l'exsudat est rouge, alors qu'il est noir pour les infections dues à *des Aspergillus ou des Penicillium.*

Ceci ne constitue pas des symptômes distinctifs des *urétrites fongiques.* La seule exception est l'infection à *Candida*, caractérisée par la formation d'une pseudo-membrane; ce symptôme n'est pas constant non plus et apparaît seulement dans le stade aigu de la maladie. Habituellement, on trouve un plus grand nombre de cellules épithéliales dans l'urétrorrhée que dans les affections non mycotiques. La miction est souvent douloureuse avec une sensation de brûlure. Dans environ 25 % des cas, les éléments pathologiques ne sont présents que le matin, avant la première miction. Dans beaucoup de cas, les éléments fongiques ont été trouvés à des intervalles irréguliers, ce qui laisse supposer que la croissance et la multiplication *des champignons* est intermittente dans l'appareil urinaire et dépend de certaines conditions favorables. HARKNESS a insisté sur l'importance d'examens répétés et conseille d'établir le diagnostic seulement si l'on trouve *le champignon dans plusieurs prélèvements consécutifs.* JANET et

HARKNESS insistent également sur la nécessité de cultiver les organismes isolés pour poser un diagnostic définitif.

Un grand nombre de ces malades sont *des diabétiques*. Dans ces cas, le traitement de l'urétrite est inefficace aussi longtemps que le diabète n'a pas été décelé, et même après, ce traitement est difficile à conduire.

L'infection mycosique de l'appareil urinaire supérieur par l'urètre est beaucoup plus rare. A part *les infections blastomycosiques et actinomycétiques*, extrêmement rares, de nombreux auteurs ont décrit des cystites, orchites, épididymites, pyélonéphrites, provoquées le plus souvent par *Candida albicans* et plus rarement par un *Saccharomyces*, *Candida tropicalis et des Sporotrichum*, avec ou sans infection généralisée. Le cas le plus surprenant a été décrit par KAPOSI et KUNDRAT qui, lors de l'autopsie d'un malade décédé d'*un favus généralisé*, ont trouvé des *granulations faviques sur la muqueuse vésicale*, alors que le malade n'avait pas de symptômes génito-urinaires. AUKLAND et PRESTON qui rapportent qu'ils ont trouvé *des éléments fongiques dans les sécrétions urétrales, prostatiques ou dans l'urine* de 5 % de leurs malades, n'indiquent pas s'ils ont ou non diagnostiqué des symptômes de prostatite ou de cystite.

Seul W. COUTTS a décrit un cas de prostatite et d'urétrite secondaire dû à un *Candida albicans*, et c'est pour cette raison que cette maladie a été considérée comme très exceptionnelle ou inapparente.

FEKETE (6) a eu l'occasion de suivre un patient de 1948 à 1953. En 1948 il avait 30 ans et avait été considéré en 1945 comme un blennorragique; à cette époque, le testicule gauche était enflé, douloureux; le malade était fébrile et frissonnait. Il a été admis à l'hôpital.

Lors de sa sortie, il avait encore quelques sécrétions urétrales blanchâtres, épaisses, surtout le matin avant la première miction et après chaque selle.

Il s'est représenté à la consultation en 1948 avec les mêmes malaises. Son état général était bon et l'auscultation n'a rien révélé de particulier. L'épididyme gauche était légèrement hypertrophié, mou, douloureux. Le lobe gauche de la prostate était également hypertrophié, sensible et infiltré. Il n'y avait pas d'épanchement urétral. L'analyse des urines était négative; dans le sédiment, on trouvait quelques leucocytes et une légère augmentation de la flore bactérienne saprophyte. *Par massage de la prostate*, on obtient une sécrétion épaisse, jaunâtre, purulente, contenant de nombreux leucocytes et *des saprophytes Gram-positifs, des Staphylocoques, des éléments mycéliens et des spores*. La culture était également positive et sur *milieu de Sabouraud* on obtenait des colonies brun noirâtre, qui devenaient rapidement pléomorphiques et incolores.

Dans les préparations en goutte pendante on voyait des éléments de 20 à 30 μ sur 10 à 16 μ ronds ou légèrement pointus. Ils étaient multiseptés et gris-brun. Le champignon a été identifié comme *un Alternaria* et probablement soit *Alternaria tenuis, soit Alternaria brevicaule*. Celui-ci est un parasite bien connu et se trouve sur les plants de tabac. Il est connu aussi en pathologie humaine comme agent de la maladie tropicale, *la caraté noire*.

Les tests cutanés au moyen d'extraits du champignon sont restés négatifs. Le sang du malade mélangé à un extrait du champignon à la proportion de 1/12 donnait une vitesse de sédimentation de 9 mm, alors que la vitesse de sédimentation normale du sujet était de 3 mm. Il en est resté ainsi pendant des mois après que le malade était considéré comme guéri.

Comme traitement, on a administré d'abord des Sulfamides, puis la Pénicilline, qui a été suivie de la disparition des Staphylocoques dans la sécrétion prostatique, mais les deux symptômes locaux restaient les mêmes et le champignon se retrouvait toujours. On a ensuite appliqué des lavements et des injections à l'Iodine, combinés avec la diathermie et des massages de la prostate. Les symptômes ont alors disparu en trois semaines.

Le malade a été revu quelques années plus tard, avec les mêmes malaises et a de nouveau été stabilisé en trois semaines par le même traitement; cependant, il fut revu encore en 1953 et le champignon a été retrouvé une fois de plus dans les sécrétions prostatiques.

D'après l'auteur, *l'urétrite d'origine fongique* est une affection assez répandue chez l'homme et dans bien des cas *d'urétrite non gonococcique* un examen approfondi peut révéler la présence de champignons. Toutefois, l'atteinte mycosique de *l'appareil génito-urinaire supérieur* est très rare et à côté du cas de COUTTS, le cas décrit par FEKETE semble être le second mentionné dans la littérature.

Un cas exceptionnel de *granulome mycosique du testicule* a été signalé par BONTKE (7); nous tenons à le rapporter ici, vu l'intérêt de cette publication dans le cadre de notre travail.

Il s'agit d'un homme de 55 ans, qui est tombé malade avec les symptômes suivants : douleur et enflure du testicule gauche, cystite et fièvre. Un premier traitement général diminua les douleurs sans réduire l'enflure; au contraire, le testicule se durcit davantage. L'état général est satisfaisant; le testicule gauche avait la taille d'un œuf de poule, il était dur et douloureux à la palpation. L'épididyme et les tubes séminifères étaient hypertrophiés. Le diagnostic différentiel laissait prévoir *une tuberculose de l'épididyme ou une tumeur testiculaire.* C'est pour cette raison qu'on a décidé une semi-castration gauche.

Le testicule n'était pas déformé, mais de consistance très dure, de la grosseur d'un pruneau après fixation au Formol. Sa surface était lisse, blanc-jaunâtre; la coupe presque homogène est d'une teinte gris-jaunâtre. L'épididyme était légèrement épaissi et le tube séminifère ne présentait pas de modification macroscopique.

Au point de vue histologique, on constate à un faible grossissement la présence de tubes séminifères qui sont séparés par du tissu intersticiel multicellulaire. La membrane propre des tubes séminifères est largement hypertrophiée; les canaux ne sont pas remplis de l'épithélium séminifère, mais de cellules très polymorphes, à grand noyau rond ou ovalaire, pauvre en chromatine et muni d'un ou de deux nucléoles. Les interstices entre les tubes séminifères ne contiennent pas *de cellules de Leydig*, mais un tissu granuleux constitué par des fibroblastes, des cellules plasmatiques, des

lymphocytes et des éosinophiles. Çà et là se trouvent des cellules farcies de lipoïdes non réfringents.

L'ensemble de cet examen histologique écarte le diagnostic de tumeur et fait penser à une *inflammation granuleuse chronique*. L'auteur a donc cherché l'étiologie de ce processus pathologique; il exclut la *Syphilis et la Tuberculose* sur la base de l'examen clinique et de l'image histologique. Il ne peut pas s'agir non plus d'une inflammation secondaire provenant de l'épididyme.

Les cellules mises en évidence dans les interstices des canalicules testiculaires semblaient suspectes au point de vue origine et signification. On constate surtout, dans le cytoplasme de ces éléments cellulaires de grande taille, des formations rondes, fortement réfringentes, ne se colorant guère à l'Hématoxyline-éosine et qui donnent ainsi l'impression de vacuoles. Ces corpuscules prennent une teinte rouge violette par la coloration à l'Acide périodique-leucofuchsine (réaction PAS). Cette propriété est constante, même dans les coupes préalablement traitées par la diastase. Il ne s'agit donc pas de Glycogène, mais d'un Mucopolysaccharide différent. D'autre part, ces corpuscules sont Gram-négatifs et non biréfringents.

D'après ces données, l'auteur a soupçonné *une infection mycosique* et a fait effectuer *la coloration spéciale* de GRIDLEY (8) qui est une combinaison de la méthode à l'Aldéhyde-fuchsine de GOMORI et de la réaction périodo-leuco-fuchsine de HOTCHKISS et Mac MANUS. Cette technique de GRIDLEY a l'avantage de ne colorer que les éléments fongiques, alors que les éléments tissulaires restent presque incolores. BONTKE a ainsi pu déceler un grand nombre d'éléments cellulaires ronds spécifiquement colorés et facilement décelables. Ils sont principalement localisés dans le *syncytium sertolien et le diagnostic d'une mycose chronique du testicule a été posé.*

La détermination du champignon en question a été effectuée dans *l'Institut d'Hygiène de l'Université de Bonn* par isolement à partir de l'éjaculat et du liquide d'expression de la prostate. La culture devenait positive un mois après l'opération et l'agent infectieux était déterminé comme étant *Candida parakrusei*. *Le sérodiagnostic* s'est montré positif 20 jours après l'opération avec un taux d'agglutination de 1/600 (+ + +) et 1/320 (+ +) et *la réaction de déviation du Complément* était positive (+ + + +) avec une dilution de sérum de 1/4. Ces valeurs ne permettent en principe pas de conclure à une infection mycosique spécifique, puisque d'après SEELIGER, elles se situent à la limite normale supérieure. Cependant, *le taux d'agglutination est tombé*, 3 mois et demi après l'opération limité à la concentration de 1/80 et *la réaction de déviation du Complément* à + + à la dilution du sérum de 1/4. On peut donc supposer qu'après l'ablation de l'organe malade, l'agent spécifique est éliminé et par conséquent, le taux d'anticorps a diminué, ce qui consolide le diagnostic histologique d'un *granulome mycosique du testicule.*

Ce travail de BONTKE est complété par quelques données historiques, d'où il ressort que l'on ne trouve guère mention, dans la littérature, *d'infections mycosiques des testicules.* CLARKE (9) a pu déceler parmi

115 cas de *Maduromycose*, un seul granulome du testicule. Bontke a relevé quelques cas *d'Orchites chroniques*, d'étiologie inconnue, mais dont l'évolution clinique et l'image histologique se rapprochent beaucoup de son cas.

Lee et Nettleship (10) décrivent cinq cas de *granulome testiculaire unilatéral* d'origine inconnue. Les malades étaient tous âgés de plus de 50 ans et ne présentaient que de faibles symptômes généraux. Le testicule initialement douloureux et enflé est hypertrophié et sclérifié et résiste à tous les traitements. Au point de vue microscopique, les auteurs constatent une fibrose prononcée et une infiltration par des cellules inflammatoires chroniques. Dans aucun de leurs cas, on n'a pu diagnostiquer *ni tumeur ni tuberculose*.

Un cas est publié par Dieterle (11) d'une Orchite chronique particulière chez un homme de 70 ans, qui ressemblait étrangement au cas de Bontke au point de vue clinique et histologique. Les canalicules testiculaires étaient farcis de cellules toujours identiques, rondes ou polygonales, avec une structure alvéolaire irrégulière et renfermant occasionnellement des gouttelettes de graisse. Les noyaux sont ronds ou ovales, moyennement chromatophiles et munis d'un ou de deux nucléoles. Les mitoses sont très rares.

Dieterle émet l'opinion qu'il pourrait éventuellement s'agir d'une tumeur bénigne.

Trois cas, étudiés par Grunberg (12) et provenant d'hommes de 63, 60 et 55 ans, avaient trait à des Orchites chroniques dont l'image clinique et histologique se rapproche également de celle du cas de Bontke. Cet auteur attire l'attention *sur la possibilité d'une infection mycosique* dans des affections tumorales unilatérales du testicule où les symptômes généraux ne sont pas spécifiques à d'autres maladies.

Nous croyons ainsi avoir épuisé les connaissances actuelles sur l'historique de ces infections mycosiques de l'urètre ou du testicule, dont nous avons eu l'occasion d'étudier un nouveau cas.

En considérant la localisation en dehors de l'appareil urino-génital, la formation *de granulome due à Candida albicans* a été signalée par Moore (1) et par Hauser et Rothman (14). Dans le cas de Moore, il s'agissait d'une lésion du dos de la main de 9 cm × 7,5 cm, à bord surélevé et à centre granuleux. L'examen histopathologique a révélé de rares formes de Levures. Hauser et Rothman décrivent en détail un cas personnel et disent en avoir relevé 13 dans la littérature. Langeron et Vanbreuseghem (15) estiment que ces cas sont très rares.

CHAPITRE II

SYSTEMATIQUE DES GERMES LEVURIFORMES

Nous n'insistons pas sur *les anciennes classifications* établies par Guilliermond, Brumpt, Langeron et Guerra, Hansen, Manil, etc., et adoptons celle de Lodder et Kreger-Van Rij (16) qui est la plus récente et devrait nous permettre de ranger l'organisme pathogène que nous avons pu isoler.

Lodder et Kreger-Van Rij distinguent trois familles :

Sporobolomycétacées,
Endomycétacées,
Cryptococcacées.

La première famille comprend les champignons évoluant morphologiquement en éléments levuriens, mais se multipliant par un appareil sporifère spécial, à *stérigmates* et *balistospores* qui les rattachent philogénétiquement aux *Basidiomycètes*. Ces organismes sont peu importants au point de vue emploi industriel et médecine humaine.

Les Endomycétacées sont rangées dans *les Ascomycètes* et dans la sous-classe *des Protascales*. Elles forment le passage entre *les Eu-ascomycètes et les Zygomycètes*. Cette famille a été subdivisée en 5 sous-familles, parmi lesquelles *les Saccharomycétoïdées* et les *Lipomycétoïdées* ont le plus d'importance à cause de leur emploi dans l'industrie et leurs propriétés pathologiques.

Les Cryptococcacées sont des organismes levuriens chez lesquels on n'a pu relever jusqu'aujourd'hui aucun phénomène sexuel. Il s'agit donc *de Levures asporogènes* qui doivent être rangées provisoirement dans la classe *des Fungi imperfecti ou Deuteromycètes*. Dans cette classe ils forment l'ordre *des Cryptococcales, dont les auteurs hollandais* donnent la définition suivante :

« Cellules bourgeonnantes toujours présentes; la formation de mycélium, de pseudomycélium et d'arthrospores est possible. Multiplication par bourgeonnement ; exceptionnellement multiplication par cloisonnement. Ces cellules sont hyalines, jamais opaques ou brunâtres. Production de pigment caroténoïde possible; métabolisme soit strictement oxydatif, soit à la fois oxydatif et fermentatif. »

Nous n'insistons pas sur la description détaillée de ces différents genres, en dehors *des Candidas* qui, seuls, nous intéressent. Nous résumons cependant la systématique dans le tableau synoptique ci-joint :

TABLEAU N° 1

Classification des organismes levuriens

Famille	Sous-famille	Tribu	Genre
Endomycetaceae (Levures ascosporogènes)	Eremascoïdeae		Eremascus
	Endomycetoïdeae		Endomyces Schizosaccharomyces
		Endomycopseae	Endomycopsis
	Saccharomycetoïdeae	Saccharomyceteae	Saccharomyces, Pichia, Hansenula, Schwanniomyces, Debaryomyces,
			Saccharomycodes, Hanseniaspora, Nadsonia.
	Nematosporoïdeae		Monosporella, Nematospora, Coccidiascus.
	Lipomycetoïdeae		Lipomyces
Sporobolomycetaceae			Sporobolomyces, Bullera, Tilletiopsis Itersonilia.
Cryptococcaceae (Levures asporogènes)	Cryptococcoïdeae	Cryptococceae	Cryptococcus, Torulopsis, Pityrosporum.
		Candideae	Brettanomyces, Candida, Kloeckera, Trigonopsis.
	Trichosporoïdeae		Trichosporon
	Rhodotoruloïdeae		Rhodotorula

Dans *le genre Candida*, nous trouvons *Candida albicans*, dont nous donnons la description d'après COUDERT (17) :

A de nombreux synonymes, parmi lesquels : *Oïdium albicans*, Rodin 1853, *Saccharomyces albicans*, Rees 1868 pour les plus anciens, et : *Candida desidiosa*, Ciferri et Redaelli 1935, *Candida mycotoruloïdes*, Redaelli et Ciferri 1935, *Parasaccharomyces colardi*, Dodge 1935, *Syringospora negronii*, Dodge 1935, *Mycotorula albicans, var. vuillemini*, Redaelli, Ciferri et Cavallero, 1939, parmi les plus récents.

ASPECT CLINIQUE :

Essentiellement agent du « muguet », caractérisé par des lésions muqueuses, non ulcéreuses, à fausses membranes blanc grisâtre, peu adhérentes. Il peut s'observer sur les diverses muqueuses : oro-pharyngée, trachéale, bronchique, œsophagienne, favorisé par un état d'acidose ou d'hyperglycémie. Il peut se localiser également dans les cavernes pulmonaires et les dilatations bronchiques, ou réaliser une pseudo-tuberculose pulmonaire chronique curable. Signalé dans des cas de macroglossie, avec enduit crémeux. Dans le tube digestif, on peut le rencontrer à tous les étages : œsophage, estomac, intestin; il pullule dans certaines diarrhées des pays chauds, ou après des cures intensives *d'antibiotiques* administrés « *per os* ». Se rencontre dans les lésions irritatives de la région anogénitale (eczéma dit à levures, prurit anal et vulvaire). Il peut proliférer dans l'urètre et la vessie, dans le vagin, dans les plis articulaires macérés. Localisation mamelonnaire chez la nourrice. *Blastomycose type Gilchrist.* Eventuellement a pu être rencontré dans des abcès de la parotide, du sein, du cerveau, de la rate, etc., dans *des Onychomycoses.* Exceptionnellement rencontré dans des septicémies, il peut donner lieu à la production de lésions allergiques, à distance des foyers de parasitisme et dont il est complètement absent.

PRELEVEMENT :

Fausses membranes, exsudat pharyngé. Eventuellement : pus, urines, selles, sang (hémocultures), etc.

EXAMEN DIRECT :

Le parasite peut se présenter sous deux aspects pouvant coexister : Filaments cylindriques de 3 à 5 μ sur 50 à 600 μ, simples ou ramifiés, formés de cellules allongées, juxtaposées bout à bout, avec parfois cellules ovoïdes ou sphériques, de 5 à 7 μ, réfringentes, accolées en verticilles aux points de jonction ou latéralement, dans l'intervalle. Eléments levuriformes, arrondis, bourgeonnants de 3,5 à 15 μ.

CULTURE :

Facile, en aérobiose. Température optimale 30°-37°; pousse sur tous milieux solides en général, associé à de nombreux microbes; nécessite l'emploi de milieux aux antibiotiques ou de passages sur Raulin pour obtenir la souche à l'état de pureté.

Examen macroscopique :

Sur milieux solides : colonie de couleur crème claire à crème jaunâtre, plus foncée vers le fond du tube ou le centre, parfois rosée ou plus rarement avec un reflet verdâtre; surface humide, luisante, généralement plate ou parfois hérissée de verrucosités, ou plus ou moins plissée. Consistance crémeuse; bords généralement lisses, nets, avec parfois en profondeur sous la colonie un pseudomycélium immergé.

Sur milieux liquides : dépôt blanc, anneau, parfois voile mince. Liquéfie la gélatine et très lentement le sérum coagulé. Coagule tardivement le lait (15 à 20 jours).

Zymogramme : Glucose, Maltose : + + ; Lévulose : + ; Galactose : + faiblement; Saccharose, Lactose, Raffinose : —.

Auxanogramme : *Sucres :* Glucose, Galactose, Saccharose, Maltose : + ; Lactose, Raffinose : —; *Azote :* Peptone, Asparagine, Glycocolle, Histidine, Tryptophane. Sulfate d'ammonium + ; Urée + faiblement; Nitrate de potassium —. Ne pousse pas sur l'Alcool. Sur milieu à l'Arbutine : pas de coloration, ou rarement, faiblement brunâtre.

Examen microscopique :

L'aspect varie selon les milieux, les souches. Blastospores arrondies ou ovoïdes de 2-5 μ sur 3-7,5 μ à 3-8,5 μ sur 5-14 μ. En culture en goutte pendante : pseudomycelium bien développé, type *Mycotorula*, formé d'éléments allongés, peu ramifiés, portant un glomérule de blastospores à chaque articulation. Chlamydospores sphériques. de 10 à 20 μ, à paroi épaisse , stratifiée, contenant des enclaves glycogéniques ou parfois allongées en bouteille.

INOCULATION :

Localisations muqueuses reproduites seulement chez des animaux rendus cachectiques par un régime carencé (Delafond). Par voie intraveineuse chez le lapin : mycose généralisée avec localisations viscérales multiples (Croizat et Rousset). Par voie sous-cutanée : abcès local sans généralisation.

IMMUNOLOGIE :

Séro-agglutination des blastospores (Hirano, 1932). Déviation du Complément (Negroni, 1934) avec, comme antigène, un extrait total de la culture ou une fraction protéique. Précipitodiagnostic (Roger, 1896). Intradermoréaction avec un extrait total ou avec la fraction hydrocarbonée de la culture.

EPIDEMIOLOGIE :

Cosmopolite. Saprophyte banal des muqueuses digestives de l'homme ainsi que des animaux domestiques ou sauvages. La possibilité de développement exubérant et pathologique est fonction de modifications du terrain : acidose, hyperglycémie, cachexie, athrepsie, à lésions locales ou générales préexistantes (*tuberculose, cancer, diabète,* etc.).

CLE DE DETERMINATION :

Pour la détermination de notre germe, nous avons utilisé la clé de détermination des Candida d'après Lodder et Kreger-Van Rij, que nous rapportons ci-dessous :

1° Zymogramme :	glucose +	2
	glucose —	28
2° Zymogramme :	galactose +	3
	galactose —	7
3° Zymogramme :	saccharose +	4
	saccharose —	6
4° Zymogramme :	maltose + lactose —	10
	maltose —	5
5° Zymogramme :	lactose +	C. *pseudotropicalis*
	lactose —	14
6° Zymogramme :	maltose + lactose —	19
	maltose — lactose —	21
7° Zymogramme :	saccharose +	8
	saccharose —	9
8° Zymogramme :	maltose + lactose —	C. *melibiosi*
	maltose — lactose —	16
9° Zymogramme :	maltose + lactose —	C. *stelladoïdea*
	maltose — lactose —	24
10° Auxanogramme :	lactose +	C. *intermedia*
	lactose —	11
11° Auxanogramme :	nitrates +	C. *pelliculosa*
	nitrates —	12
12° Pseudomycélium réduit; zymogramme : raffinose + à 1/3		C. *robusta*
Pseudomycélium bien développé		13
13° Blastospores stalagmoïdes ; zymogramme : saccharose + très faible, raffinose + à 2/3		C. *melibiosi*
Blastospores ovalaires; zymogramme : saccharose + fort, raffinose faible ou nul		C. *tropicalis*

14° Auxanogramme :	maltose + lactose —	15
	maltose — lactose +	C. *macedoniensis*
15° Zymogramme :	saccharose + faiblement, raffinose —	C. *parapsilosis*
	saccharose + fortement, raffinose +	18
16° Auxanogramme :	galactose + nitrates +	17
	galactose — nitrates —	C. *utilis*
17° Zymogramme :	raffinose +	13
	raffinose —	C. *solani*
18° Zymogramme :	raffinose + à 1/3; mélibiose ±	C. *guillermondi*
	raffinose 2/3; mélibiose +	C. *melibiosi*
19° Coagule rapidement le lait; pseudomycélium sans glomérules de blastospores		C. *clausenii*
Ne coagule pas le lait; pseudomycélium avec glomérules de blastospores		20
20° Auxanogramme :	maltose +	C. *albicans*
	maltose —	C. *truncata*
21° Auxanogramme :	saccharose, maltose +	22
	saccharose, maltose —	C. *catenulata*
22° Auxanogramme :	lactose + faible; coagule le lait	C. *tenuis*
	lactose —; ne coagule pas le lait	23
23° Colonies parfois roses; présence de cellules type pulcherrima; pousse sur alcool; réaction + sur arbutine		C. *pulcherrima*
Colonies jamais roses; pas de cellules type pulcherrima; ne pousse pas sur alcool; pas de réaction sur arbutine		C. *parapsilosis*
24° Auxanogramme :	maltose +	25
	maltose —	C. *kruseï*
25° Auxanogramme :	saccharose +	26
	saccharose —	C. *brumpti*
26° Auxanogramme :	galactose +	27
	galactose —; Zymogramme : glucose + faible	C. *melinii*
27° Colonies parfois roses; présence de cellules type pulcherrima; pousse sur alcool; auxanogramme : galactose + faible		C. *pulcherrima*
Colonies jamais roses; pas de cellules type pulcherrima; ne pousse pas sur alcool; auxanogramme : galactose + fort		C. *reukaufii*
28° Auxanogramme :	galactose +	29
	galactose —	33

29°	Auxanogramme : saccharose +	30
	saccharose —, maltose +. lactose —	C. *brumpti*
30°	Auxanogramme : maltose +	31
	maltose — lactose —	C. *rugosa*
31°	Auxanogramme : lactose +	32
	lactose —	C. *scottii*
32°	Sur extrait de malt : voile épais, jaunâtre, feuilleté	C. *humicola*
	voile mince, blanchâtre, ou anneau	C. *curvata*
33°	Auxanogramme : saccharose +, maltose +, lactose —	34
	saccharose —, maltose —, lactose —	36
34°	Auxanogramme : nitrates +, cellules courtes (3-6 μ)	C. *melinii*
	nitrates —, cellules longues (6-15-20 μ)	35
35°	Coagule le lait; pas de voile sur extrait de malt; colonie muqueuse sur milieu gélosé	C. *japonica*
	Ne coagule pas le lait; voile sur extrait de malt; colonie non muqueuse sur milieu gélosé	C. *mesenterica*
36°	Coagule le lait	C. *lipolytica*
	Ne coagule pas le lait	37
37°	Voile précoce sur extrait de malt	C. *mycoderma*
	Pas de voile, ou seulement tardif, mince, sur extrait de malt.	C. *zeylanoïdes*

En considérant ces données, on se rend compte que l'on différencie les Levures par les caractères essentiels suivants :

PROPRIETES MORPHOLOGIQUES :

Caractère de la reproduction végétative.
Aspect et taille des cellules.
Formation d'ascospores ou de balistospores et leur aspect morphologique.
Caractères macroscopiques des colonies culturales.

PROPRIETES PHYSIOLOGIQUES :

Formation de pellicule ou de voile sur des milieux liquides définis.
Assimilation des sucres *(Auxanogramme)*.
Fermentation des sucres *(Zymogramme)*.
Assimilation de l'azote.
Propriétés protéinolytiques : gélatine, blanc d'œuf, sérum coagulé.
Possibilité d'utilisation de l'alcool éthylique comme source unique de carbone.
Elaboration de substances amylacées (amidon).
Formation de pigments caroténoïdes.

Production d'esters.
Production d'acides volatils ou fixes.
Caractères culturaux en milieu de lait tournesolé.
Dégradation de l'Arbutine.
Pouvoir lipolytique.

La classification de ces germes levuriformes est basée en premier lieu sur *les propriétés morphologiques*. On différencie ainsi les trois familles déjà citées, suivant qu'elles sont aptes ou non à la reproduction sexuée par *ascospores* ou la formation de *balistospores*.

Pour contrôler la capacité de *former des ascospores*, on a recours à différentes méthodes; la technique la plus employée est celle ayant recours *au bloc de plâtre*. GORODKOWA (18) a mis au point un milieu à base de gélose qui présente un certain nombre d'avantages sur la première méthode. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette technique ultérieurement.

La recherche des balistospores se fait par mirage du couvercle de la boîte de Pétri; en effet, si l'on effectue la culture de ces organismes dans ces boîtes, les *balistospores* sont projetées par un mécanisme inné à ces champignons, vers le couvercle et peuvent être facilement décelées par mirage.

Au point de vue diagnostic morphologique, on doit également tenir compte *de la multiplication végétative, de l'aspect et de la taille des cellules ainsi que du bourgeonnement*.

D'autre part, on doit prendre en considération *l'aspect morphologique macroscopique des colonies* se développant sur des milieux nettement définis. On est cependant obligé d'avoir recours *aux propriétés physiologiques* pour établir un diagnostic différentiel des genres et des espèces.

Une propriété chevauchant ces deux sortes de caractères est constituée par le contrôle de la formation *d'une pellicule ou d'un voile à la surface de milieux liquides* nettement définis. L'aspect dépend d'une part de la constitution morphologique des cellules et d'autre part du besoin en oxygène de ces organismes.

L'attaque des oses est un des symptômes différentiels les plus utiles. *La fermentation des sucres* avec formation d'alcool et d'anhydride carbonique est un des phénomènes physiologiques les plus anciennement connus. Les sucres qu'il faut utiliser à ce sujet sont les suivants : *Glucose, Levulose, Galactose, Mannose, Saccharose, Maltose, Lactose* et *Raffinose*. *L'assimilation des sucres* est en relation étroite avec le pouvoir fermentatif de ces derniers et son contrôle est aussi important que celui de la production de gaz. *Tous les sucres dégradés avec fermentation gazeuse sont forcément assimilés;* le contraire n'est cependant pas toujours le cas, puisqu'un sucre peut être assimilé par un processus d'oxydation, mais comme KLUYVER et CUSTERS (19) l'ont montré, sans production de gaz.

Le métabolisme azoté constitue un des phénomènes essentiels pour orienter le diagnostic, comme généralement en microbiologie. En ce qui *concerne les Levures*, on a démontré que la propriété d'utiliser *les Nitrates* comme unique source d'azote a une importance essentielle. En effet,

Wickerham (20) a pu montrer que toutes les souches de Levures examinées par lui pouvaient utiliser le *Sulfate d'ammonium*, *l'Asparagine* et *l'Urée* comme unique source d'azote, à condition d'incorporer dans le milieu de culture les facteurs de croissance ou les vitamines nécessaires à ces germes.

Le contrôle de l'assimilation des Nitrates est très important pour différencier les espèces, mais il est également utile pour établir un diagnostic des genres. *L'emploi de l'Alcool éthylique* comme source unique de carbone peut également constituer un caractère différentiel.

Burkholder (21) ainsi que Schultz et Atkin (22) ont essayé d'utiliser *les besoins en Vitamines* pour différencier les espèces levuriennes; mais cette propriété n'a pas encore trouvé d'application pratique.

La production de *pigments caroténoïdes* a rendu des services pour sélectionner *la sous-famille de Rhodotoruloïdées.*

En ce qui concerne la formation de substances amylacées, ce caractère est particulier *au genre Cryptococcus.* La production d'acide à partir de Glucose constitue un caractère différentiel du *genre Brettanomyces.*

Dans le genre Candida, la dégradation de l'Arbutine peut servir de caractère différentiel; ainsi, les espèces voisines de *Candida albicans* sont généralement dépourvues de cette propriété. alors que le groupe des *Candida tropicalis* dégrade ce Glycoside.

Les modifications *du lait tournesolé et la formation d'esters*, en particulier *d'Acétate d'éthyle*, rentrent également en ligne de compte pour la classification *des Candida.* La recherche *du pouvoir lipolytique* permet de séparer quelques espèces, en particulier *Candida lipolytica et Trichosporon pullulans* qui possèdent des lipases hautement actives.

En ce qui concerne *le pouvoir gélatinolytique*, son importance est beaucoup moindre chez les levures que chez les bactéries. Si cette liquéfaction s'effectue, elle est d'habitude très lente et très peu différente d'une espèce à l'autre. Nous verrons cependant que l'observation soigneuse de ce processus de lyse peut rendre de grands services pour sélectionner les diverses variétés d'un groupe de Candida.

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE III

OBSERVATION CLINIQUE D'UNE ORCHI-EPIDIDYMITE GRANULOMATEUSE PSEUDO-TUMORALE

Le cas que nous avons pu étudier a été diagnostiqué par E. Blum et A. Batzenschlager (23). Il s'agit d'un homme âgé de 70 ans, garde-chasse, venu en consultation le 7 août 1959 pour un gros testicule droit avec épididyme également augmenté de volume, évoluant depuis quelques mois. L'affection s'est très lentement et progressivement aggravée, sans donner lieu à une augmentation de température. Au palper, le testicule est uniformément hypertrophié, à surface régulière; le sillon épididymo-testiculaire est effacé et l'épididyme lui-même est agrandi dans son ensemble, sans présenter de nodosités.

La vaginale paraît épaissie, les téguments sont souples et libres. Au toucher rectal, *la prostate est nettement augmentée de volume;* les vésicules séminales ne sont pas engorgées. Les urines sont claires, mais contiennent de fortes traces d'albumine. Le malade n'accuse ni dysurie ni pollakiurie. Les recherches sérologiques sont négatives pour *la Syphilis*. L'urée sanguine est à 0,39 g %, la glycémie à 0,91 g %. La numération globulaire et la formule sanguine ne montrent aucune anomalie. *La vitesse de sédimentation* est cependant nettement augmentée, se chiffrant à 40/70.

En présence de ce tableau à début insidieux, à évolution progressive et lente sans régression, même temporaire, sans poussée infectieuse apparente et ne rappelant en rien une orchi-épididymite, ni banale ni tuberculeuse, on évoque la possibilité *d'une affection tumorale du testicule.*

Avant l'intervention chirurgicale, l'examen hématologique a donné les résultats suivants :

Hémoglobine 94 %,
Hématies 4.880.000
Valeur globulaire 0,95
Leucocytes 7.000

Polynucléaires neutrophiles	76
Eosinophiles	3
Basophiles	0
Lymphocytes	20
Grands mononucléaires	1

Une hématologie sans particularité, comme on le voit.

Le 14 août 1959, on procède à une intervention exploratrice. En présence de l'importante augmentation de volume du testicule et de sa consistance ferme, d'allure plutôt tumorale qu'inflammatoire, on pratique une hémicastration. Les suites opératoires sont banales.

EXAMEN ANATOMO-PATHOLOGIQUE :

Le testicule et l'épididyme sont trois fois plus volumineux que normalement, mais leur forme est conservée; il n'y a aucune bosselure ou déformation tumorale visible. La vaginale est épaissie, tapissée par des fausses membranes blanchâtres, partiellement hémorragiques. A la coupe, l'aspect finement grumeleux et brunâtre se trouve remplacé dans sa totalité par celui d'un tissu blanchâtre, homogène et de consistance très ferme.

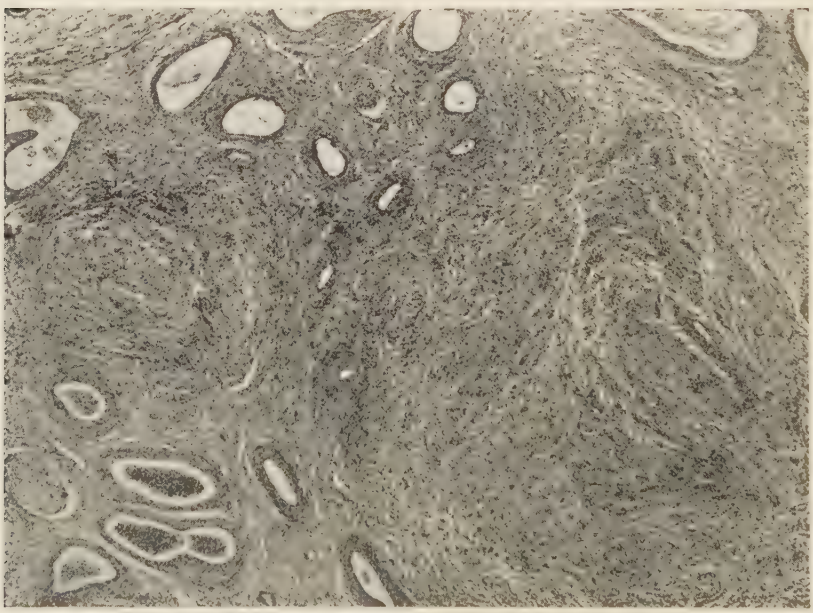

Fig. n° 1. — *Epididyme :* Certains canaux encore intacts (à gauche sur la figure) contiennent des amas de cellules inflammatoires. Ailleurs, les structures épididymaires sont remplacées par du tissu granulomateux vaguement nodulaire, histiocytaire, giganto-cellulaire et sclérogène. Coloration à l'hémalun-éosine-safran. Grossissement 31 ×.

Histologiquement, on peut aisément éliminer toute suspicion de néoplasme; les altérations sont purement inflammatoires. Dans l'épididyme on trouve deux stades lésionnels. A la phase précoce, subaiguë, les canaux épididymaires ont une structure subnormale et leur revêtement cylindrique cilié est intact. Cependant, leur lumière est encombrée de leucocytes polynucléaires, partiellement en dégénérescence lytique et de macrophages mononucléés. Le tissu intersticiel est parsemé d'infiltrats peu denses et polymorphes, à leucocytes polynucléaires, à lymphocytes, plasmocytes et histiocytes macrophagiques. Au stade très évolué, les canaux épididymaires ont disparu et sont remplacés par des nodules granulomateux histiocytaires et fibroplastiques en tous points comparables à ceux qui prennent la place des tubes séminifères dans le testicule.

Fig. n° 2. — *Testicule :* La moitié gauche de la figure montre des tubes séminifères à contenu purement sertolien séparés par un abondant tissu fibreux, riche en infiltrats lymphocytaires et plasmocytaires. A droite sur la figure on voit des nodules granulomateux à prédominance histiocytaire, macrophagiques, qui ont pris la place des tubes détruits. Coloration hémalun-éosine-safran-fuchsine. Grossissement 70 ×.

Dans le testicule, les lésions sont diffuses et étendues à la totalité du parenchyme. Dans les rares territoires où elles sont relativement peu accentuées ou au début de leur évolution, les altérations sont surtout intersticielles. Les infiltrats lymphocytaires et plasmocytaires denses forment des manchons périvasculaires et péritubulaires. La sclérose interstitielle, déjà très développée, épaissit considérablement la membrane propre des tubes séminifères. Ceux-ci sont tapissés uniquement par des éléments sertoliens et leur lumière contient de petits amas de cellules macro-

phagiques ou lymphoplasmocytaires. Dans les zones très étendues où les lésions sont plus intenses, le syncytium sertolien a disparu et les tubes séminifères sont entièrement remplacés par du tissu granulomateux, dont la particularité consiste dans sa grande richesse en cellules histiocytaires macrophagiques. Les plasmodes multinucléés sont peu fréquents. Les amas granulomateux qui prennent la place des tubes séminifères sont fusionnés avec le tissu scléreux intersticiel, parsemé d'infiltrats lymphocytaires et plasmocytaires. Quelques tubes situés sous l'albuginée sont entièrement atrophiés et transformés en des cals scléro-hyalins.

Par ailleurs, il existe une pachyvaginite subchronique banale avec quelques exsudats fibrinoleucocytaires plus récents. Dans le cordon spermatique, seule la présence de quelques infiltrats lymphocytaires et plasmocytaires peu denses situés autour des vaisseaux et l'existence de rares polynucléaires ou de quelques cellules mononucléées dans la lumière du canal déférent, témoignent d'un processus inflammatoire.

En somme, les lésions épididymaires et testiculaires sont identiques à celles que Blum et Batzenschlager ont décrites antérieurement chez un malade de 37 ans sous la dénomination « d'Orchi-épididymite chronique histiocytaire et giganto-cellulaire résorptive ».

A la lumière de l'examen histopathologique de la pièce, les investigations cliniques et biologiques ont été complétées par la recherche de germes dans les urines et dans les sécrétions prostatiques obtenues après massage de la prostate.

J. Meyer a effectué sur ces prélèvements pathologiques des colorations au Gram, au May-Grünwald + Giemsa et des examens entre lame et lamelle. Nous reproduisons ci-dessous quelques microphotographies de ces préparations.

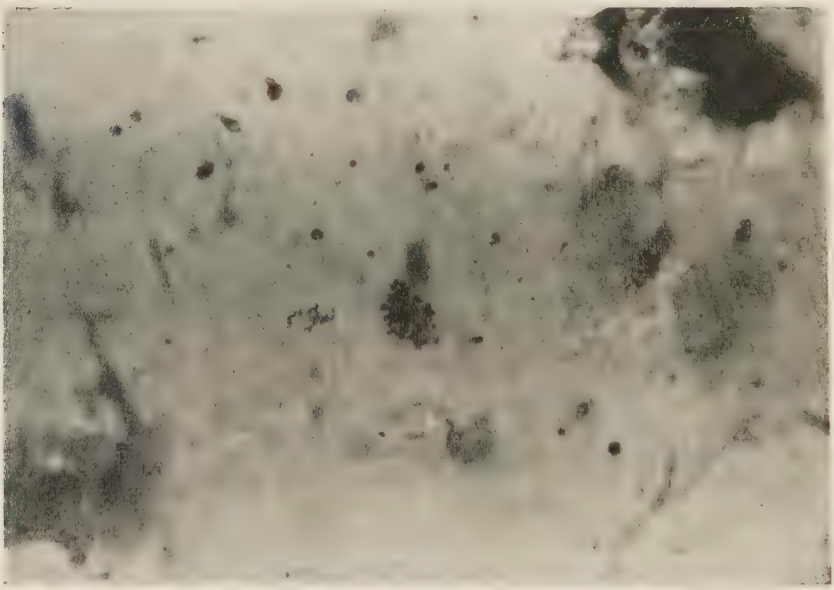

Fig. n° 3. — *Expression prostatique*, premier prélèvement. Coloration de Hotchkiss et MacManus. Grossissement 260 ×.

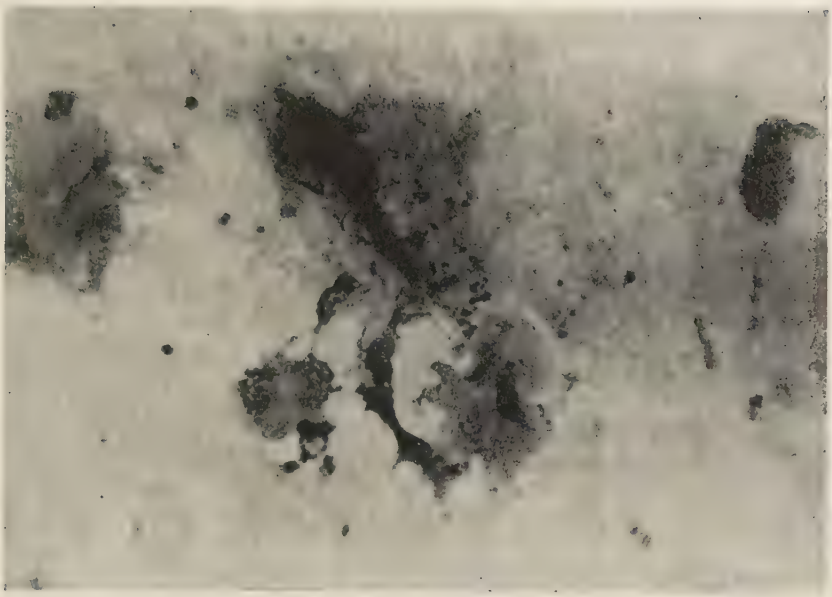

Fig. n° 4. — *Expression prostatique*, troisième prélèvement. Coloration de Hotchkiss et MacManus. Grossissement 260 ×.

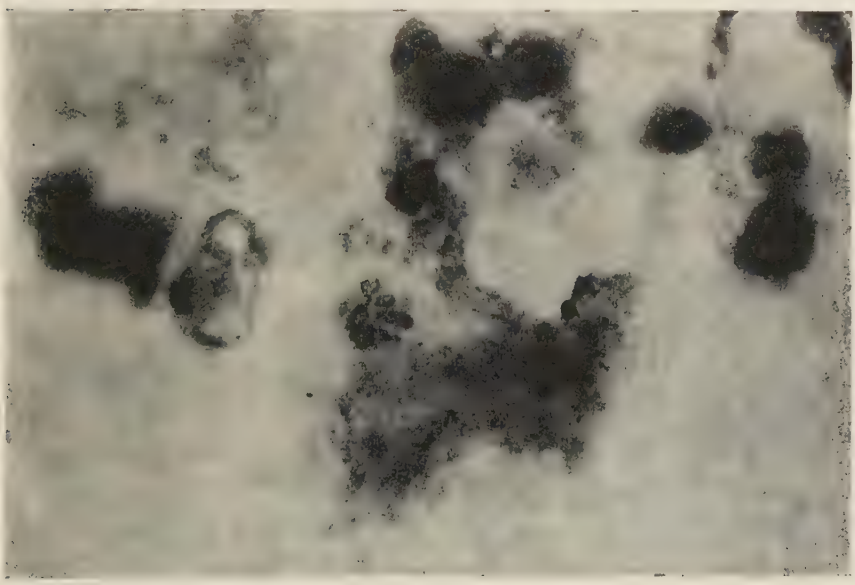

Fig. n° 5. — *Expression prostatique*, deuxième prélèvement.. Coloration May-Grünwald + Giemsa. Grossissement 600.

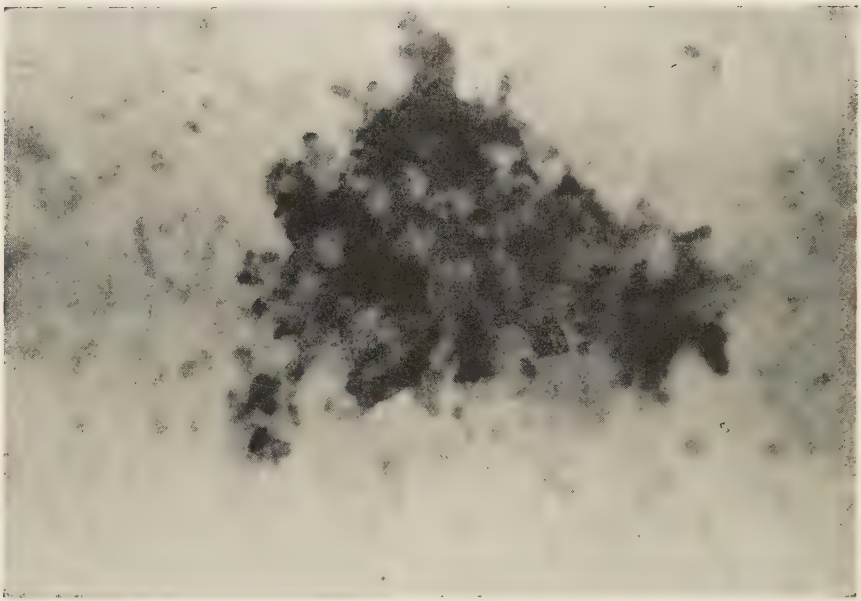

Fig. nº 6. — *Sédiment urinaire*, deuxième prélèvement. Coloration de Hotchkiss et MacManus. Grossissement 600 ×.

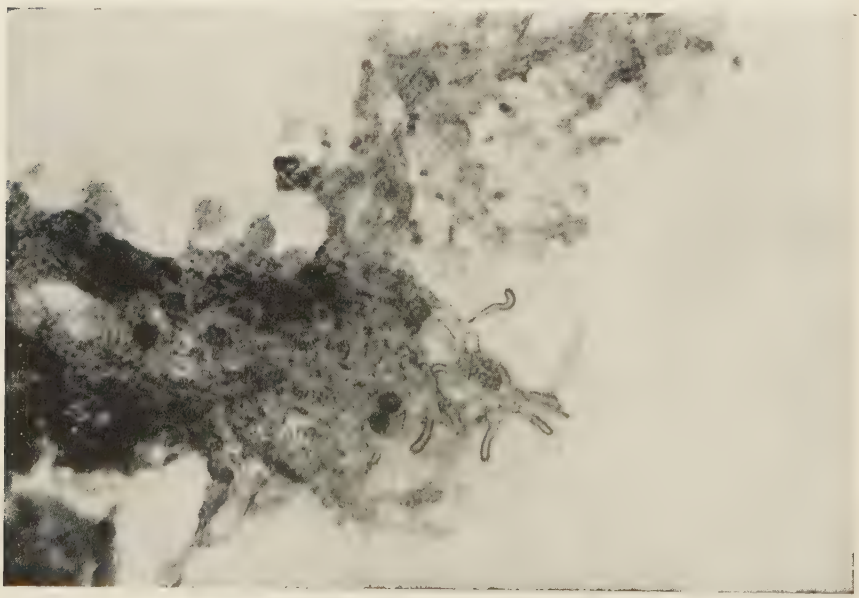

Fig. nº 8. — *Sédiment urinaire*, deuxième prélèvement. Coloration de May-Grünwald + Giemsa. Grossissement 600 ×.

Comme on le voit, ces examens ont mis en évidence un organisme mycélien levuriforme. A la suite de cette constatation, l'examen histopathologique a été repris et les coupes ont été colorées par la technique de GRIDLEY et celle du PAS d'après MAC MANUS en se référant au travail de BONTKE.

Technique de coloration de Hotchkiss et MacManus :

On emploie comme réactifs :

1° Une solution aqueuse d'Acide périodique à 1 % ;

2° Le réactif de Schiff :

Fuchsine	2,0 g
Eau distillée bouillante	400,0 cc

Laisser refroidir à 50° et ajouter :

Acide chlorhydrique 2 N	10,0 cc
Métabisulfite de soude anhydre	4,0 g

Laisser 12 heures à l'obscurité et ajouter :

Charbon animal	1,0 g

On filtre et si un frottis coloré au moyen de ce réactif devient rose en séchant, on ajoute encore 15 cc d'HCl 2 N.

Mode opératoire :

On laisse agir l'Acide périodique pendant 5 minutes à la température du laboratoire, puis on lave soigneusement et on fait agir le réactif de Schiff de 15 à 45 minutes (en général 30 minutes). Laver à l'eau distillée longuement.

On peut contrecolorer au moyen d'une solution de Vert malachite à 0,02 % ou de Vert lumière. Le réactif de Schiff se conserve à l'obscurité et dans un flacon à bouchon émeri pendant environ un mois.

Ces colorations spéciales révèlent dans les coupes histologiques la présence d'innombrables corpuscules ronds ou ovalaires bien circonscrits et à limites précises, très fortement colorés en rouge.

(*Voir figures page suivante*)

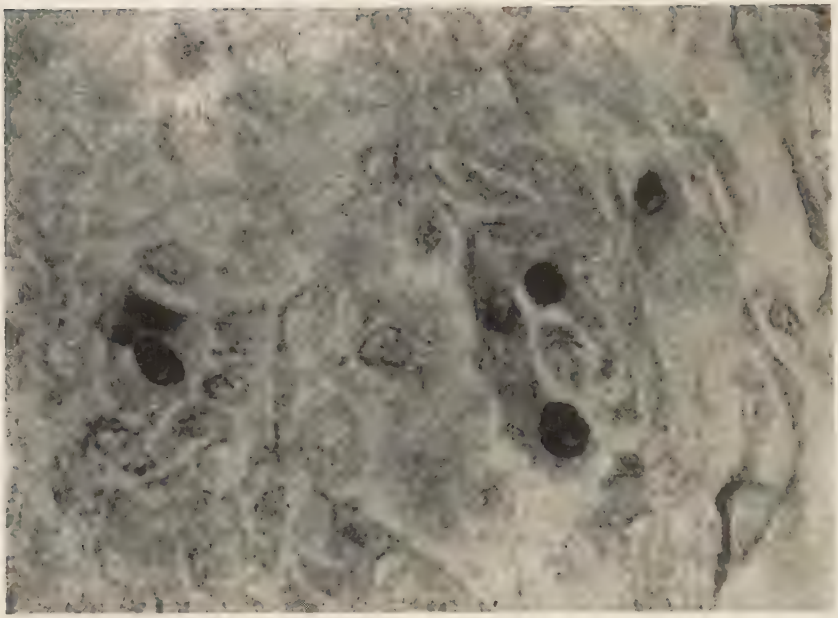

Fig. n° 8. — *Orchi-épididymite granulomateuse :* Mise en évidence dans les éléments histiocytaires de boules rondes ou ovalaires qui sont des levures. Coloration de GRIDLEY. Grossissement 1 500 ×.

Fig. 9. — *Un Blastomycète intracytoplasmatique :* Il a des contours très nettement dessinés et contient une sphérule plus claire. Coloration de GRIDLEY. Grossissement 1 800 ×.

Ces corpuscules sont situés dans le cytoplasme des éléments macrophagiques. Ils mesurent 3 à 6 μ de diamètre, soit environ le tiers ou la moitié d'un noyau d'histiocyte. Certains sont homogènes, d'autres contiennent une sphérule plus claire, centrale ou légèrement excentrée, leur conférant un double contour. Ces corpuscules se distinguent toujours par leur forme, leur intense colorabilité et la netteté de leur contour, d'autres inclusions muco-polysaccharidiques de résorption ou de plages d'altération cytoplasmiques et peuvent par conséquent être considérés comme des éléments levuriformes.

Cette observation présente un intérêt particulier : les affections granulomateuses pseudo-tumorales du testicule ou de l'épididyme, lésions qui se rencontrent également dans la prostate, n'ont pratiquement pas retenu l'attention des auteurs *en France*. Cliniquement, cette affection mériterait donc d'être connue; elle peut prêter à confusion avec des infections spécifiques orchi-épididymaires et surtout avec des lésions tumorales malignes. Le diagnostic précis peut généralement être confirmé par l'examen histopathologique d'une ponction-biopsie ou plus souvent de la pièce d'exérèse. Au point de vue clinique on peut évoquer la possibilité de cette affection lorsqu'on est en présence d'une orchi-épididymite à allure très insidieuse, afébrile, évoluant à bas bruit ou par poussées inapparentes, donnant cependant une hypertrophie progressive, lente mais notable, du testicule et de l'épididyme. Cliniquement, cette affection se distingue d'une tumeur vraie par le caractère évolutif éminemment plus lent. *La constatation de formes levuriennes dans les urines, les sécrétions prostatiques et les produits d'excrétion des vésicules séminales* représentent un argument de présomption supplémentaire en faveur de l'orchi-épididymite chronique granulomateuse.

Nous avons isolé et étudié *la Levure responsable* de cette affection.

CHAPITRE IV

CARACTERISATION DE L'AGENT LEVURIEN INFECTIEUX

Méthodes de culture et d'isolement :

Nous avons vu antérieurement que *le Blastomycète, agent infectieux*, a été trouvé à l'examen direct dans les urines et dans les sécrétions prostatiques, conjointement à des bactéries du type *Colibacille, Entérocoque et Staphylocoque.* Il s'agissait donc d'isoler le germe levurien.

Les premières cultures ont été effectuées sur milieu P.C.B. *de l'Institut Pasteur (Pomme de terre, Carotte, Bile).* Il s'agit d'une forme modifiée *du milieu* P. C. préconisée par LANGERON :

Eau ordinaire	1.000 cc
Pulpe de pomme de terre	20 g
Pulpe de carotte	20 g
Gélose	20 g

La bile est ajoutée comme agent antiseptique pour empêcher le développement d'un certain nombre de bactéries.

Ce milieu est excellent pour l'étude *des champignons levuriformes* et favorise la formation des filaments et des asques.

Cependant, les premières cultures étaient très souillées, et nous donnons deux microphotographies du second passage sur ce milieu :

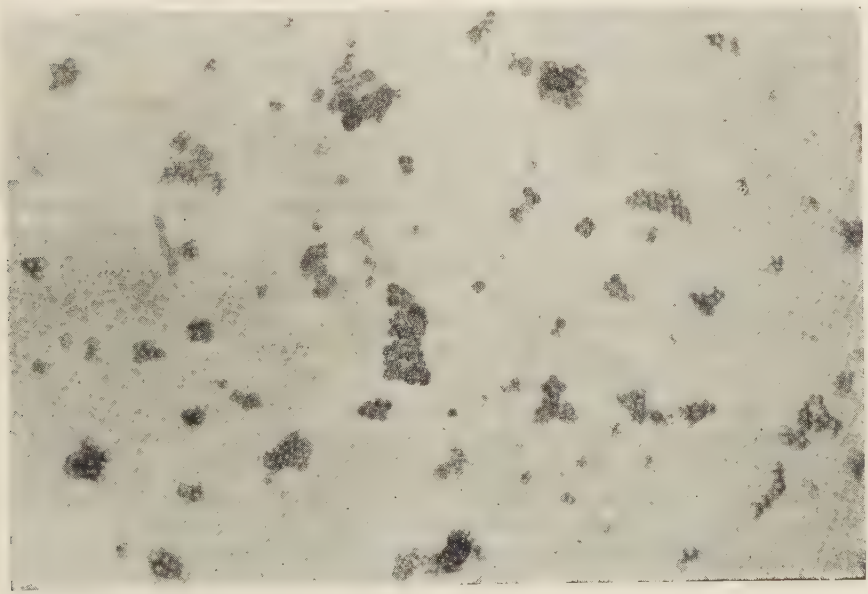

Fig. nº 10. — *Sédiment urinaire :* Coloration de HOTCHKISS et MACMANUS. Grossissement 400 ×.

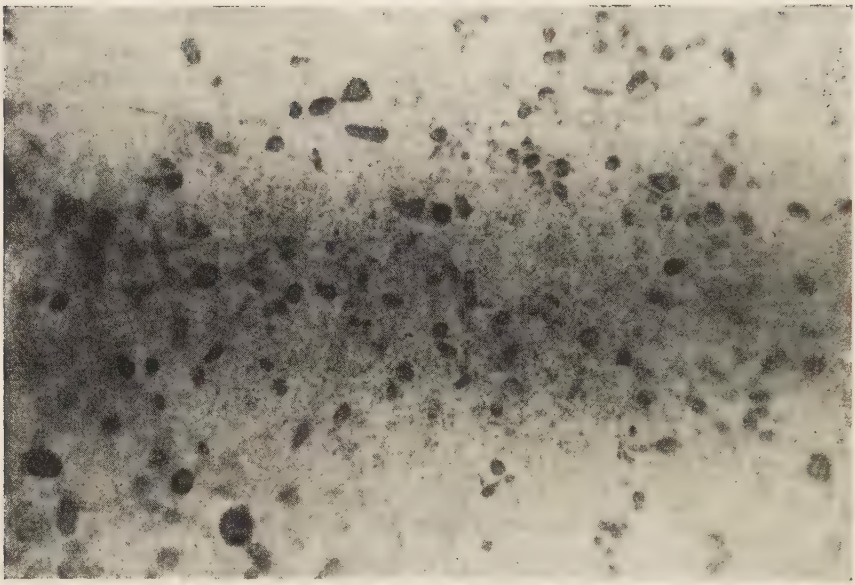

Fig. n° 11. — *Expression prostatique.* Coloration au May-Grünwald + Giemsa. Grossissement 600 ×.

Après plusieurs passages, nous avons pu isoler *le Blastomycète* à l'état de pureté et l'avons étudié sur les milieux habituellement employés *en mycologie,* dont nous donnons ci-dessous la composition :

Culture sur lame :

Pour cette recherche, nous avons utilisé *le milieu glycériné au jus de* pomme de terre (J. Meyer). Pour la technique de culture même, nous avons employé une légère modification de la méthode de Rivalier et Seydel (24).

Des lames de verre flambées sont placées dans une boîte de Pétri stérile munie de tubes de verre coudé servant de support. En soulevant légèrement le couvercle de la boîte de Pétri, nous coulons à l'aide d'une pipette de Pasteur stérile, sur les lames préalablement chauffées, quelques gouttes du milieu gélosé liquéfié par la chaleur. On recourbe une pipette de Pasteur en triangle, dont la base constitue une spatule, au moyen de laquelle on étend uniformément les quelques gouttes de milieu sur la lame. Dans la boîte de Pétri, le milieu, en se refroidissant, forme sur la lame une mince pellicule solide. On dispose alors quelques éléments levuriens sur cette pellicule, en deux ou trois points. On dépose dans le fond de la boîte de Pétri un tampon de coton imbibé d'eau stérile. On porte le tout à l'étuve à 27° pendant quelques jours. Les cultures sont arrêtées et examinées dès qu'à l'œil nu on remarque qu'elles se sont développées. On peut fixer alors à l'alcool et on colore avec un colorant adéquat, par exemple

le bleu de méthylène ou le bleu de naphtophénol, puis on déshydrate à l'alcool absolu, à l'alcool-xylol et au xylol pur. On obtient ainsi une préparation durable, en plaçant sur la culture une lamelle munie d'une goutte de baume du Canada pour inclure la préparation.

Culture en milieu au moût de bière.

Nous avons eu recours à du moût non houblonné, que nous avons introduit à raison de 100 cc dans des ballons d'Erlenmeyer de 250 cc. Le tout est stérilisé à 110° pendant 20 minutes. Après ensemencement et culture à 27° pendant trois jours, on peut contrôler l'aspect et la taille des cellules par des prélèvements portés sur lame et étudiés entre lame et lamelle.

Culture en milieu de Sabouraud glucosé :

Sur ce milieu, les cultures ont été effectuées comme précédemment.

L'examen microscopique entre lame et lamelle était pratiqué de la façon suivante : on y dispose une gouttelette de glycérine, deux gouttes d'eau distillée et une goutte de culture liquide.

D'autre part, nous avons préparé des frottis, soit au moyen d'une goutte de prélèvement dans le milieu liquide, soit en dilacérant une fraction de culture dans un peu d'eau distillée. Après étalement, on laisse sécher à l'air, on fixe à la flamme et on colore au Gram, à la Fuchsine phéniquée diluée ou au May-Grünwald.

Ces deux techniques permettent de noter les faits suivants :

Présence de cellules sous deux formes différentes :

Cellules rondes ou ovalaires, quelquefois légèrement allongées, souvent fortement réfringentes. En ce qui concerne la taille, on peut différencier trois groupes; dans le premier nous rangeons des cellules mesurant 2 à 5 μ sur 2 à 7,5 μ. Le second groupe, le plus fréquent, est constitué par des éléments de 3 à 6,5 μ sur 3,5 à 12,5 μ. Le troisième groupe est formé par des cellules plus grandes, variant entre 3 à 8,5 μ sur 5 à 15 μ. Il existe des formes intermédiaires et ces trois groupes ne sont pas nettement délimités.

Filaments cylindriques formés de cellules allongées, pouvant mesurer de 5 μ à 750 μ. Ces éléments forment *un pseudomycélium avec des verticilles* insérés à la jonction de deux éléments cylindriques; ils sont formés par de petites cellules rondes ou ovalaires qui ne sont autres que des *blastospores*, éléments de reproduction par bourgeonnement.

Les microphotographies que nous rapportons ci-dessous illustrent mieux que toute description l'aspect de ces cultures en milieu liquide.

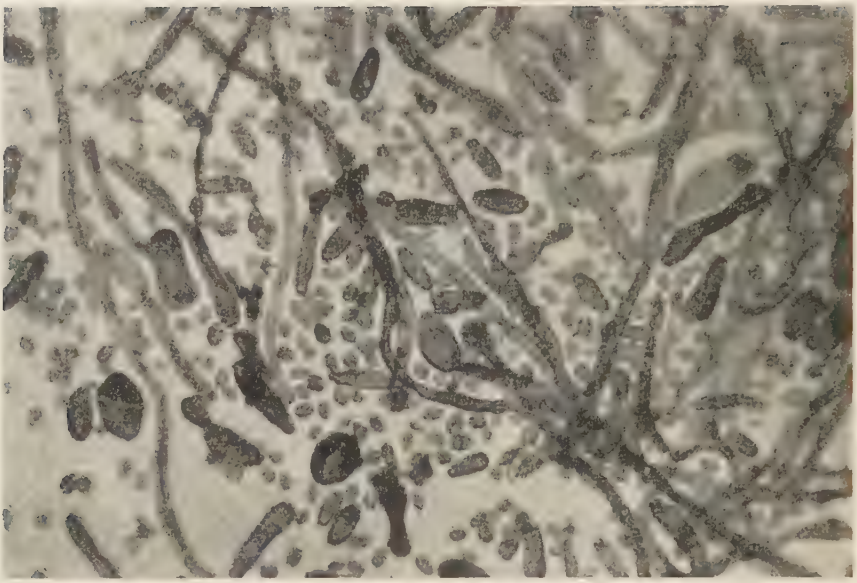

Fig. nº 12. — *Frottis de culture en milieu de Sabouraud glucosé.* Coloration de May-Grünwald + Giemsa. Grossissement 1 200 ×.

Fig. nº 13. — *Examen entre lame et lamelle d'un prélèvement en milieu de Sabouraud glucosé.* Culture âgée de 8 jours. Grossissement 480 ×.

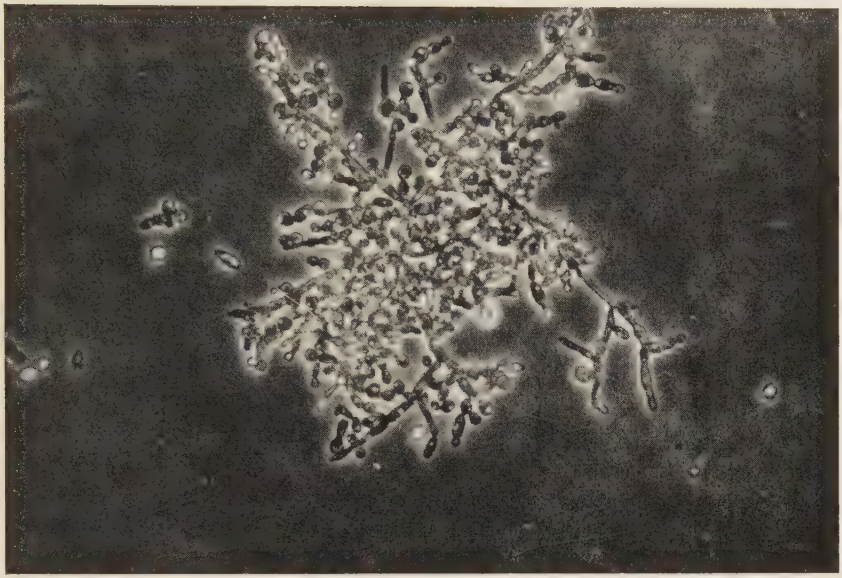

Fig. n° 14. — *Examen entre lame et lamelle au microscope à contraste de phase.* Culture en milieu de Sabouraud glucosé âgée de 15 jours. Grossissement 480 ×.

L'aspect macroscopique des cultures en milieu liquide est caractérisé par la formation d'un voile à la surface du milieu, vers le 5e au 8e jour, se détachant ensuite et tombant au fond du tube où il forme un dépôt blanc; ce voile se renouvelle progressivement, de sorte que le dépôt devient assez abondant.

En observant nos cultures pendant quatre semaines, nous avons pu constater la formation d'un anneau au contact du verre, finissant par former un voile muqueux.

Culture en stries sur moût de bière ou milieu de Sabouraud gélosés :

Sur les deux milieux les colonies apparaissent très rapidement; elles sont primitivement rondes, blanchâtres, lisses et humides, pour devenir ensuite crémeuses. En vieillissant, les colonies isolées sont souvent entourées d'un cercle strié de rayons prolongés par des ramifications digitées, se développant à la surface du milieu. Les colonies poussant vers le fond du tube peuvent prendre une teinte plus foncée, à reflets jaune verdâtre; elles adhèrent fortement au milieu par des ramifications poussant en profondeur du milieu et *formées par un pseudomycélium. Les cultures âgées* peuvent être complètement *mamelonnées*, à l'exception d'une bande étroite vers le bord, et prennent habituellement un aspect mat. Dans ce cas, les éléments mycéliens ne se trouvent qu'en profondeur du milieu, à l'intérieur de la couche gélosée et, morphologiquement, ils sont groupés en filaments

pectinés ou réunis en bouquets. Plus rarement, on constate un mycélium aérifère présentant un bord à aspect effrangé.

Culture en piqûre :

Nous constatons un riche développement *de pseudomycélium à l'intérieur du substrat.* On trouve assez rarement *du mycélium vrai en pelotons ou en grappes de blastospores (type Mycotorula).* Ces blastospores sont formées au sommet de certains hyphes. Elles sont allongées et peuvent prendre la forme typique constatée antérieurement en milieu liquide.

Les chlamydospores se formant facilement, sont sphériques, de 12 à 25 µ, à paroi épaisse, stratifiée, avec des corpuscules plus ou moins réfringents. Parfois, elles sont allongées en forme de bouteille. Ces éléments peuvent être terminaux, mais aussi intercalaires et groupés en amas (*voir fig.* 12 *et* 13).

Contrôle de la formation des ascopores :

A ce sujet, nous avons eu recours à la méthode de Gorodkowa et à celle du bloc de plâtre. D'après la littérature, la première donne des résultats aussi bons que la seconde. On prépare le milieu suivant :

Peptone	1,00 g
Bouillon de viande	1,00 g
Chlorure de sodium	0,50 g
Glucose	0,25 g
Gélose	1,00 g
Eau distillée	100,00 cc

On ensemence dans ce substrat gélosé des prélèvements de Levures jeunes et luxuriantes, qui se développent assez rapidement pendant les premières heures de culture, mais *la très faible quantité de glucose* est insuffisante à assurer pour longtemps leur nutrition. Gênée dans sa reproduction, la Levure peut, le cas échéant, se défendre par la formation d'éléments sexués.

La culture sur milieu de Gorodkowa ne nous a pas permis de mettre en évidence des ascospores. C'est pour cette raison que nous avons eu recours au bloc de plâtre.

On dispose le bloc de plâtre dans un cristallisoir, dans lequel on verse une petite quantité d'eau distillée. Celle-ci doit former au fond du récipient une couche suffisamment épaisse pour atteindre environ la moitié de la hauteur du bloc de plâtre. De toutes façons, il faut éviter que l'eau diffuse jusqu'à l'extrémité supérieure du bloc, de façon à ce que les Levures que l'on ensemence sur la surface plane ne soient jamais recouvertes d'eau. Le bloc de plâtre doit simplement s'imbiber d'eau, ainsi la Levure trouvera les conditions d'humidité qui lui sont nécessaires pour assurer *la formation des appareils sexués.*

Le cristallisoir est fermé à l'aide d'un couvercle non rodé, afin que l'air y pénètre librement. L'appareil ainsi préparé est stérilisé à l'autoclave à 115° pendant 30 minutes et, si nécessaire, on remplacera l'eau évaporée.

Des Levures jeunes sont déposées à la surface du bloc de plâtre; on ferme le cristallisoir et on place le dispositif à l'étuve à 27°. Au moyen de prélèvements de contrôle, nous avons constaté qu'après 30 à 35 heures, les cellules ensemencées commencent à germer. Il est nécessaire d'éviter l'infection du bloc de plâtre par des *bactéries et des moisissures*.. Notons en passant que, parfois, certaines bactéries aident à la formation des asques; c'est ainsi que A. SARTORY (25) a pu obtenir *des appareils sexués dans le genre Willia* par la symbiose d'une bactérie avec cette Levure.

Cette méthode au bloc de plâtre ne nous a pas permis non plus de mettre en évidence la formation d'ascospores chez notre organisme.

En résumé, nous pouvons dire que nous avons affaire à *un champignon levuriforme anascosporé*, se multipliant soit par bourgeonnement, soit par *des blastospores*. La production de ces dernières est relativement fréquente et il en est de même *des chlamydospores*. La culture en milieu liquide donne un voile muqueux avec un anneau plutôt chétif; ce voile tombe au fond du tube et se renouvelle régulièrement.

Sur milieu solide, la culture en stries donne des colonies lisses, blanchâtres, se plissant en vieillissant et formant un cercle périphérique. Les cultures âgées peuvent évoluer vers un aspect rugueux.

L'examen microscopique montre la présence de cellules sphériques ou ovalaires, pouvant être bourgeonnantes. *En culture par piqûre*, il y a formation abondante *de pseudomycélium* et rarement nous avons noté la présence *de mycélium vrai* à la surface du milieu.

ETUDE BIOCHIMIQUE DE NOTRE ORGANISME :

Fermentation des différents sucres ou zymogrammes :

Le pouvoir et le degré de fermentation des divers sucres, oses ou holosides est à la base de la détermination des espèces. Grâce *aux différents zymogrammes*, nous pouvons souvent déterminer *à quel Candida* nous avons affaire.

A cet effet, nous avons utilisé huit sucres dans deux milieux différents : *Glucose, Saccharose, Maltose, Lactose, Galactose, Raffinose, Levulose, Mannose.*

Milieu de Langeron et Guerra :

Peptone	10,0 g
Eau distillée q.s.p.	1.000,0 cc

On répartit dans des tubes à essais à raison de 8 cc par tube, puis on stérilise pendant 20 minutes à 120°. On ajoute ensuite dix gouttes de chaque sucre en solution stérile à 32 %. On ensemence avec une goutte

d'émulsion de levure dans l'eau distillée stérile. On coule dans chaque tube une couche de 4 mm d'un mélange :

Huile de paraffine	1 partie
Paraffine pour inclusions	2 parties

mélange que l'on aura passé quelques minutes au bain-marie bouillant pour chasser l'air. On liquéfie au moment de l'emploi.

Nous avons préparé de cette manière trois tubes pour chaque sucre mis à l'épreuve et après observation pendant 8 jours des cultures à l'étuve à 27°, nous avons enregistré les résultats suivant :

Maltose	+	Galactose	+
Glucose	+	Lévulose	+
Lactose	—	Raffinose	—
Saccharose	—	Mannose	+

Méthode de Schürmann aux tubes Besson :

Schürmann (26) a mis au point un milieu synthétique de composition :

Phosphate monopotassique	1,0	g
Chlorure de calcium	0,1	g
Sulfate de magnésie	0,5	g
Silicate de potasse	0,3	g
Glucose	40,0	g
Acide glutamique	6,5	g
Acide folique	0,003	g
Pantothénate de calcium	0,012	g
Nicotinamide	0,012	g
Eau distillée	1.000,0	cc

pH = 6,6 — 6,8

Nous avons préparé ce milieu en omettant d'y introduire le Glucose. On introduit 10 cc de milieu dans les tubes à essai, puis on y dispose un tube Besson; on stérilise pendant 20 minutes à 110° avant d'introduire les différentes solutions des sucres à tester, de façon à avoir une concentration en sucre de 0,4 g par tube.

On ensemence comme précédemment à l'aide d'une goutte de suspension dans l'eau distillée stérile d'un prélèvement de culture sur milieu solide.

Nous avons préparé trois tubes pour chaque sucre et après 8 jours de culture à 27°, nous avons obtenu les résultats suivants :

Maltose	+ +	Galactose	+
Glucose	+ + +	Lévulose	+ + +
Lactose	—	Raffinose	—
Saccharose	—	Mannose	+

Assimilation des sucres aux auxanogrammes :

Si un organisme fait fermenter un milieu contenant un certain sucre (dans notre cas le Glucose ou le Maltose par exemple), il est inutile de

préciser qu'il l'a précédemment assimilé. Donc, d'après les zymogrammes précédents, nous savons déjà que notre germe assimile le Glucose, le Galactose, le Lévulose, le Maltose et le Mannose.

Pour étudier les autres sucres, il suffit d'introduire dans le milieu un indicateur de pH virant en cas de dégradation de l'ose en question vers la zone acide.

A ce sujet, nous avons encore eu recours à deux méthodes différentes.

Méthode de Lodder :

On emploie un milieu synthétique :

Sulfate d'ammonium	5,0 g
Phosphate monopotassique	1,0 g
Sulfate de magnésium	0,5 g
Chlorure de calcium	0,1 g
Chlorure de sodium	0,1 g
Eau distillée	1.000,0 cc

Ce milieu est réparti à raison de 8 cc dans des tubes et stérilisé à l'autoclave à 115° pendant 20 minutes. On prépare d'autre part des solutions à 20 % des divers sucres à étudier, on tyndallise pendant trois jours consécutifs, puis on répartit chaque sucre à raison de 1 cc dans le milieu minéral avec toutes les précautions d'asepsie. Le substrat ainsi constitué, nous l'avons ensemencé au moyen de trois gouttes d'une suspension de notre Levure dans l'eau distillée stérile.

Ce milieu peut être avantageusement additionné extemporanément d'une faible quantité de solution polyvitaminée stérilisée par ultrafiltration. Cette solution a la composition suivante :

Biotine	2,0 γ
Pantothénate de calcium	400,0 γ
Inositol	2.000,0 γ
Niacine	400,0 γ
Acide para-aminobenzoïque	200,0 γ
Chlorhydrate de pyridoxine	400,0 γ
Chlorhydrate de thiamine	400,0 γ
Riboflavine	200,0 γ
Eau distillée	10 cc

Comme indicateur, nous avons employé le Bleu de bromothymol, qui présente quatre teintes bien distinctes entre pH = 6,0 et 7,6 : jaune en milieu nettement acide, vert olive en milieu légèrement acide, vert herbe en milieu légèrement alcalin et bleu en milieu franchement alcalin.

Après 43 heures de séjour à l'étuve à 27°, nous lisons les résultats suivants :

Maltose	+	Galactose	+
Glucose	+	Lévulose	+
Lactose	—	Raffinose	—
Saccharose	+	Mannose	+

Milieu de Schürmann au Rouge de méthyle :

Nous avons réparti le milieu de SCHÜRMANN à raison de 10 cc par tube, et avons introduit deux gouttes de solution de Rouge de méthyle pour ajuster le milieu à un pH entre 6,2 et 6,8 (soit la zone verte de l'indicateur). On stérilise puis on ajoute aseptiquement les solutions sucrées comme précédemment. On ensemence ensuite avec notre Levure et on dispose à l'étuve à 27°. On contrôle après 58 heures *le virage de l'indicateur au rouge*. Les résultats ont été identiques à ceux enregistrés précédemment.

Nous aurons l'occasion de revenir ultérieurement sur ces résultats qui doivent nous permettre de classer notre organisme.

ASSIMILATION DE L'ALCOOL COMME SOURCE UNIQUE DE CARBONE :

Le milieu de base pour cette recherche est celui employé par STELLING-DEKKER (27) légèrement modifié :

Sulfate d'ammonium	1,10 g
Phosphate monopotassique	1,00 g
Sulfate de magnésie	0,50 g
Eau distillée	1.000,00 cc

On répartit en tubes et on stérilise à 120° pendant 15 minutes. Après refroidissement, nous introduisons une goutte de la solution polyvitaminée, puis on ajoute aseptiquement l'Alcool éthylique pour arriver à une concentration de 3 %. On voit que ce milieu ne contient, en dehors de l'Alcool, aucune substance hydrocarbonée. On prépare un tube témoin sans Alcool et ensemence au moyen d'une émulsion de la souche levurienne. On dispose à l'étuve à 25° et on lit le résultat du développement après 4, 8 et 21 jours. *Ce résultat est nettement positif dans notre cas.*

CONTROLE DE LA DEGRADATION DE L'ARBUTINE :

L'Arbutine est un hétéroside qui, par hydrolyse, se transforme en *Hydroquinone et Glucose*. En cas d'attaque de *l'Arbutine par la Levure*, il devrait donc être possible de déceler *l'Hydroquinone* par la réaction au Perchlorure de fer, qui fait apparaître une coloration bleue virant au jaune brunâtre. Pour mener à bien cette recherche, nous avons employé le substrat minéral précédemment décrit additionné de solution polyvitaminée.

A 10 cc de ce milieu on ajoute 1 cc d'une solution d'Arbutine à 5 % préalablement tyndallisée. Nous avons préparé deux séries de tubes; dans la première nous avons introduit immédiatement 2 gouttes de solution de Perchlorure de fer, et dans l'autre ce réactif n'est introduit qu'après culture de 48 heures. Les deux séries ont été ensemencées et la lecture se fait après 48 heures et 6 jours.

Dans notre cas, le résultat de ces essais est négatif.

ASSIMILATION DE L'AZOTE :

Pour ces recherches, nous avons eu recours au milieu synthétique de LODDER destiné à cette recherche :

Phosphate monopotassique	1,0 g
Sulfate de magnésium	0,5 g
Glucose	20,0 g
Gélose lavée	20,0 g
Eau distillée	1.000,0 cc

Ce milieu est destiné à l'étude de l'utilisation des substances azotées suivantes : *Sulfate d'ammonium, Nitrate de potassium, Urée, Asparagine* et *Histidine.*

Le milieu de base est stérilisé à 115° pendant 15 minutes; la substance azotée est ajoutée au milieu encore liquide dans les proportions suivantes : Sulfate d'ammonium 1,0 g; Nitrate de potassium 0,75 g et les autres produits à raison de 0,50 g. Après dissolution des sels, le milieu est coulé en boîtes de Pétri stériles.

Comme milieu-test, nous avons employé le même substrat, additionné de 1 g de Peptone comme source d'azote. On ensemence avec la suspension levurienne; on place les boîtes à 27° et on contrôle la croissance après 2 et 6 jours.

Les cultures étaient positives sur milieu à la *Peptone*, à l'*Asparagine*, à l'*Histidine* et au *Sulfate d'ammonium.*

Elles étaient négatives pour le *Nitrate de potassium* et l'*Urée.*

CULTURE EN LAIT TOURNESOLÉ :

On introduit dans des tubes de culture 10 cc de lait dégraissé et l'on tyndallise pendant 3 jours successifs. On ajoute ensuite 1 cc de Teinture de tournesol stérile à 1 %. Dans une deuxième série, on introduit en plus 1 cc d'une solution stérile de Lactate de calcium à 5 %. On ensemence et on place à l'étuve à 27°. On effectue la lecture des résultats après 2 et 5 semaines.

Au bout de ce temps, *nous n'avons pu observer de coagulation du lait* malgré un développement satisfaisant du champignon.

CONTROLE DE LA LIQUEFACTION DE LA GELATINE :

Pour ces recherches nous avons utilisé des tubes contenant 10 cc de milieu de SCHÜRMANN glucosé, au Rouge de méthyle. Ce substrat est additionné de 20 % de Gélatine; le tout est stérilisé à l'autoclave à 110° pendant 15 minutes et réparti en tubes stériles. On laisse refroidir en position verticale et on ensemence par piqûre. L'observation de la culture est poursuivie pendant un mois. Pour notre germe, la liquéfaction se manifeste tardivement; il pousse en profondeur, formant un entonnoir à la surface.

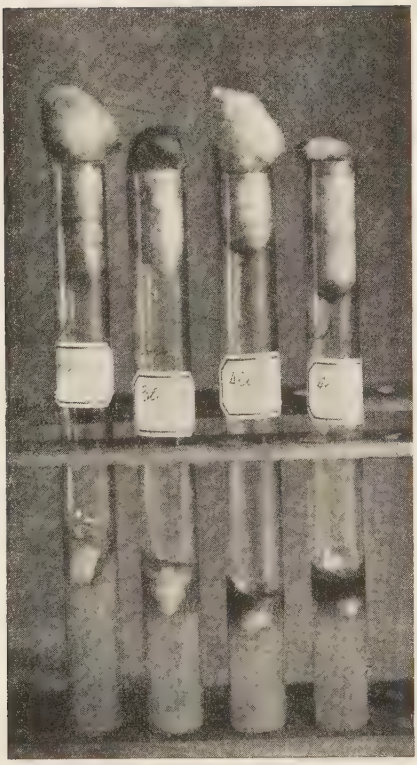

Fig. 15. — Etude comparative du pouvoir gélatinolytique de Candida albicans et notre Candida. — Candida albicans : liquéfaction en cupule évasée. — Candida en étude : liquéfaction en entonnoir.

FORMATION DES SUBSTANCES AMYLACEES :

Pour ces recherches nous avons utilisé le milieu synthétique de STELLING-DEKKER à 1 % de Glucose et 2,5 % de Gélose. On dissout à l'autoclave, puis on ajuste le pH à environ 4,5 au moyen d'Acide chlorhydrique dilué. On répartit en tubes et on stérilise à l'autoclave à 110° pendant 15 minutes. Finalement, on introduit aseptiquement la solution polyvitaminée.

Au moment de l'emploi, on coule en boîtes de Pétri stériles et on ensemence comme d'habitude. On place à l'étuve à 27° et on effectue le contrôle de la formation de *substances à base d'amidon* en introduisant après 1 et 2 semaines de culture quelques gouttes d'une solution iodo-ioduré (Lugol) à la surface du milieu gélosé. L'apparition d'une teinte bleuâtre ou violette indique un résultat positif, ce qui est le cas pour notre organisme.

Après avoir ainsi effectué les diverses recherches nécessaires pour la détermination de notre organisme, nous concluons qu'il s'agit d'un Candida possédant les caractères suivants :

Levure anascosporée, à cellules sphériques bourgeonnantes; pseudo-mycélium abondant; mycélium vrai exceptionnel; blastospores en glomérules, sphériques ou plus ou moins allongées; chlamydospores terminales et intercalaires. Dans le tableau suivant nous comparons les différentes espèces *du groupe Candida albicans,* auquel notre organisme doit faire partie par ses propriétés morphologiques.

TABLEAU N° 2

Propriétés biochimiques	Candida				
	albicans	stelladoïdea	triadis	truncata	Germe à déterminer
Zymogramme :					
Glucose	+	+	++	+	++
Galactose	±	±	+	±	+
Saccharose	—	—	—	—	—
Maltose	+	++	+	+	++
Lactose	—	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—	—
Lévulose	+	+	+	+	+++
Auxanogramme des Glucides :					
Glucose	+	+	+	+	+++
Galactose	+	+	+	+	+++
Saccharose	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+++
Lactose	—	—	—	—	—
Raffinose	—	—	—	—	—
Lévulose	+	+	+	+	+++
Arbutine	±	—	—	?	—
Alcool	—	+	±	—	+
Auxanogramme de l'Azote :					
Peptone	+	+	+	+	+
Asparagine	+	+	+	+	+
Histidine	+	+	+	+	+
Sulf. ammonium	+	—	+	+	+
Nitrate potassium	—	—	—	—	—
Urée	+	—	+	—	—
Coagulation :					—
Lait tournesolé	+		—	?	
Liquéfaction de la gélatine	±	?	+	+	±

Si l'on compare notre organisme à *Candida albicans*, on constate tout d'abord qu'ils assimilent et fermentent les glucides sensiblement de la même manière. Par conséquent notre germe doit faire partie *du groupe des Candida albicans*, notamment par ses propriétés de fermenter le Glucose, le Galactose et le Maltose. Il assimile le Saccharose sans le fermenter et est incapable d'utiliser le Lactose. Ces caractéristiques sont essentielles *du groupe Candida albicans.*

Cependant, *notre Levure se différencie du Candida albicans type* par sa capacité d'assimiler l'alcool, ses propriétés protéolytiques plus faibles, c'est-à-dire son incapacité d'assimiler l'urée, de coaguler le lait et la liquéfaction plus tardive de la gélatine en entonnoir, alors que *Candida albicans* la liquéfie en cupule évasée (voir fig. n° 15).

Notre organisme pathogène rentre indubitablement dans le groupe des *Candida albicans.* D'après Langeron et Guerra (28) ce groupe comporte les quatre germes suivants : *Candida albicans, C. triadis, C. stelladoïdea* et *C. truncata.* En dehors du zymogramme et de l'auxanogramme des sucres et de l'azote, ce groupe se caractérise essentiellement par la formation des *chlamydospores.*

En comparant *notre Levure pathogène* avec les trois autres espèces du groupe, nous voyons *qu'elle se rapproche essentiellement de Candida triadis. Langeron et Guerra.* La seule différence est que d'après les auteurs, ce germe assimile l'urée alors que le nôtre en est incapable, et que son pouvoir protéinolytique et gélatinolytique est moins prononcé.

A côté *des caractères biochimiques ci-dessus indiqués, ces Candida* présentent certains caractères morphologiques qui peuvent être utiles pour leur identification. *Candida stelladoïdea* forme des colonies étoilées sur gélose au sang, et sur milieu liquide, des colonies collées à la paroi du tube. De plus, ce germe sécrète un pigment diffusible, de teinte vert-bleu en milieu acide et virant au jaune en milieu alcalin.

Candida truncata forme des filaments courant à la surface de la gélose et des colonies adultes à sommet tronqué; il donne facilement *un pseudomycélium* avec des verticilles de blastospores arrondies ou ovalaires.

Candida triadis forme en milieu liquide un voile muqueux, d'après Langeron et Talice. Ce germe a été isolé par Brocq-Rousseu, Guilliermond et des Cilleuils (29) *à l'Hôpital de Saumur* des crachats d'un spahi atteint d'accidents pleuro-pulmonaires. Langeron et Talice ont étudié en 1931 ce germe et l'ont dénommé, en l'honneur des trois auteurs, *Mycotoruloïdes triadis.* La description initiale par les trois auteurs donne les caractéristiques suivantes :

Sur milieu à *l'extrait de levure liquide*, il y a formation de colonies isolées à la surface, qui peuvent se réunir pour former *une pellicule fragile. En moût de bière*, formation d'un dépôt et d'un mince anneau; formation de cellules levuriennes rondes ou allongées de taille variable; présence de cellules géantes. Formation de *pseudomycélium et de mycélium vrai* avec cellules bourgeonnantes. *En moût de bière gélosé*, colonies blanc jaunâtre, humides et lisses, granuleuses au centre, à structure cérébroïde.

Culture en piqûre sur gélatine formant un canal ramifié anastomosé, avec liquéfaction de la gélatine. Zymogramme : Glucose +, Lévulose +, Mannose +, Galactose —, Maltose +, Saccharose inverti, Lactose —. Coagulation du lait +.

Langeron et Talice insistent sur ces caractères, ils donnent quelques détails morphologiques et prennent ce germe comme espèce-type *des Mycotoruloïdées.* Diddens et Lodder (30) ont repris l'étude de ce champignon et confirment *l'identité de leur souche avec Mycotoruloïdes triadis.* Ils remarquent que les différences qu'ils constatent par rapport *aux auteurs français* en ce qui concerne le pouvoir fermentatif sont peu significatives, puisque ces derniers ont eu recours à la méthode de Lindner, alors qu'eux-mêmes ont employé des techniques plus modernes. Ils ont également constaté *le manque de coagulation du lait,* symptôme qu'ils considèrent, eux aussi, comme peu caractéristique. C'est pour ces raisons qu'ils ont rejeté le nom de *Mycotoruloïdes* en lui préférant celui de *Candida albicans, var. triadis.* Martin, Jones *et leurs collaborateurs* (31), ainsi que Ciferri, Redaelli et Cavallero (32) sont du même avis.

Langeron et Guerra maintiennent cependant en 1938 leurs positions et considèrent *Candida triadis comme une espèce autonome,* en se basant surtout sur les propriétés morphologiques et culturales. *Candida triadis* forme en effet en milieu glucosé à 2 % un anneau et un voile, les colonies ont plutôt un aspect jaunâtre. Ces symptômes ont été confirmés par l'étude de Diddens et Lodder. Castellani (33) considère également *Candida triadis* comme une espèce autonome, à qui il donne le nom de *Monilia triadis* et qu'il rapproche de *Monilia nabarroï.* Les caractères distinctifs essentiels entre *Candida albicans* et *C. triadis* sont, d'après Diddens et Lodder : l'aspect des cultures sur moût de bière et l'abondance chez *C. triadis* de blastospores ovales et de petite taille.

Nous concluons par conséquent que *notre Levure pathogène* doit être considérée comme appartenant à l'espèce *Candida triadis, Langeron et Guerra,* dont il se différencie par son incapacité d'assimiler l'urée, son pouvoir protéo- et gélatinolytique moins prononcé et son pouvoir assimilateur et fermentatif du *Galactose.* C'est pour ces raisons que nous proposons d'appeler *notre agent infectieux d'Orchi-épididymite granulomateuse : Candida triadis, Langeron et Guerra, var. E. Blum.*

CHAPITRE V

ETUDE IMMUNOLOGIQUE DE NOTRE CANDIDOSE

Après avoir posé le diagnostic histopathologique et microbiologique de l'orchi-épididymite granulomateuse, il nous incombait d'apporter la preuve de la spécificité de l'agent causal par les expériences immunologiques.

On sait que la preuve de *la pathogénéité des Candida* par la recherche expérimentale sur les animaux est encore très discutée. On emploie généralement le lapin, très réceptif, mais les résultats varient selon les espèces et en particulier selon les souches de *Candida employées.*

Rioux, Bessière *et leurs collaborateurs* (34) mentionnent que la possibilité pour *Candida albicans* de provoquer une « *mycose maladie* » ne fait plus l'objet de controverses; par contre, les problèmes pathogéniques demeurent sans solution satisfaisante. L'exaltation intrinsèque de la virulence des *Candida* reste pour l'instant du domaine de l'hypothèse. De même, la part du terrain tissulaire ou humoral dans le déclenchement, la persistance et la guérison des lésions est loin d'être précisée. Ainsi, il faut bien le dire, les résultats des prélèvements effectués au laboratoire ne possèdent que rarement une valeur absolue. Le praticien a appris maintenant à se défier d'une thérapeutique étiologique à *sens unique* que lui dictait pourtant la réponse catégorique du laboratoire.

La connaissance du terrain conditionnée par l'infestation elle-même, prend ainsi une importance considérable dans *l'interprétation pathogénique et le diagnostic des candidoses.* Ceci doit nous amener tout naturellement à l'étude sérologique des affections *à Candida.* Des études semblables, ayant trait à la *réaction de déviation du complément* pour le titrage des anticorps, ont été effectuées dans ces derniers temps par Janke (35) et Pospisil (36). Cependant, dès 1936, Ravaut et Rabeau (37) ont beaucoup insisté sur l'importance et la fréquence des phénomènes de sensibilisation dans les infections mycosiques. A la suite de ces travaux, les expérimentations ont démontré la réalité de *ces symptômes immunologiques et leur complexité.* Parmi ces recherches, tendant à préciser la valeur des méthodes sérologiques dans le diagnostic des mycoses, figurent celles de F. Widal et de ses collaborateurs (38), de Peck et ses collaborateurs (39), de Doughty (40), de Seeliger (41) et de Goldin (42).

De l'étude approfondie de ces auteurs, il ressort que *le problème fondamental est le mode de préparation des antigènes et leur titrage.* Ces faits sont principalement soulignés par GARGANI (43) et KEENEY et ERIKSEN (44). Ces recherches ont été reprises ces derniers temps par BESSIÈRE *et ses collaborateurs* (45) au sujet de la préparation, de la valeur et du choix des antigènes obtenus à partir d'une souche de *Candida albicans.* Ces travaux nous ont été d'une grande utilité et nous aurons l'occasion d'y revenir.

Pour mener à bien nos recherches, nous avons tout d'abord dû préparer les divers antigènes. A ce sujet, nous nous sommes servi du milieu *liquide de Sabouraud glucosé*, que nous avons introduit dans des boîtes de Roux à raison de 250 cc; on stérilise pendant 30 minutes à 120°. Nous avons effectué quatre séries de cultures de notre *Candida triadis*, puis de *Candida albicans*, *Candida lipolytica* et *Candida kruseï*. Les milieux ont été ensemencés avec les germes en question, prélevés sur le milieu de Sabouraud glucosé gélosé.

Après 8 jours de culture à 27°, nous avons centrifugé le contenu de 30 boîtes de Roux. Les différents culots de centrifugation ont été desséchés dans le vide sous Anhydride phosphorique et le rendement en résidu sec a été le suivant :

Candida triadis	11 g
Candida albicans	6 g
Candida lipolytica	15,5 g
Candida kruseï	12 g

Au moyen de ces poudres desséchées, nous avons préparé les différents antigènes. Cependant, pour *le séro-diagnostic d'agglutination*, nous avons eu recours à une émulsion de cellules levuriennes. On prélève sur le milieu de Sabouraud glucosé gélosé environ 1 g de culture, que l'on broie dans un mortier avec 5 cc de soluté physiologique. La suspension ainsi obtenue est filtrée à travers un papier-filtre lâche, laissant passer un certain nombre de cellules levuriennes. L'examen microscopique nous a permis de faire la numération de ces éléments et d'en ajuster le nombre entre 150 et 200 éléments par champ microscopique (Objectif 5, oculaire 10). Ce chiffre est considéré comme dilution optimale pour *les Candida.*

Les antigènes de sérologie ont été préparés d'après plusieurs méthodes pour sélectionner le meilleur.

Extraction à l'alcool absolu :

1 g de culot sec est épuisé par 7 g d'alcool absolu, en agitant de temps en temps et en laissant en contact pendant 8 jours à la température du laboratoire. On passe sur un filtre lavé à l'éther.

Extraction à l'acétone :

1 g de culot sec est épuisé de la même façon par 7 g d'acétone, et filtré.

Extraction à l'éther :

1 g de culot sec est épuisé de la même façon avec 10 g d'éther et filtré après 3 jours de séjour à la température du laboratoire, disposé dans un flacon bouché à l'émeri.

PREPARATION D'UN ANTIGENE GENRE KOLMER :

A titre scientifique, nous avons jugé intéressant de préparer un antigène mycosique en nous référant *à la technique de Kolmer employée couramment en sérologie vénérienne.* A notre connaissance, de tels *antigènes* n'ont jamais été mis en expérience jusqu'à ce jour, et un essai se justifiait par conséquent.

Nous avons procédé de la façon suivante : Dans un flacon bouché à l'émeri nous avons introduit 30 g de poudre desséchée *de Candida* que nous avons macéré dans 100 cc d'Acétone pendant 2 jours à la température du laboratoire, en agitant fréquemment. On filtre sur papier lavé à l'Ether, le filtre est légèrement exprimé, on rejette le filtrat. Le résidu est épuisé une seconde fois au moyen de 100 cc d'Acétone de la même manière. On élimine encore le filtrat. Le résidu est séché à l'air jusqu'à disparition complète de l'odeur d'Acétone. On l'introduit ensuite dans un nouveau flacon bouché à l'émeri et l'on y ajoute 200 cc d'Ether sulfurique. Le flacon est soigneusement bouché et on procède à l'épuisement pendant trois jours à la température du laboratoire en agitant fréquemment. On filtre sur papier lavé à l'Ether en récupérant le filtrat éthéré. D'autre part, on sèche le résidu jusqu'à disparition totale de l'Ether à la température du laboratoire, on reporte le résidu sec dans un nouveau flacon et on l'épuise avec 100 cc d'Alcool absolu pur, pendant 5 jours à la température ambiante en agitant fréquemment. On passe à travers un filtre lavé à l'Ether et on recueille le filtrat dans une éprouvette jaugée. Le résidu sur le filtre est lavé à l'Alcool pur jusqu'à obtention d'un volume final de 100 cc.

Pour renforcer éventuellement le pouvoir antigénique de cet extrait alcoolique, nous l'avons complété par l'extrait éthéré préparé antérieurement. A ce sujet, nous avons évaporé dans une capsule l'extrait éthéré jusqu'au cinquième du volume initial, puis nous y avons ajouté 3 à 6 volumes d'Acétone. On mélange et laisse reposer pendant 12 heures. On décante alors l'Acétone. On conserve à la glacière le résidu insoluble dans l'Acétone. On prépare d'autre part une solution de Cholestérol pur en dissolvant 0,4 g dans 10 cc d'Ether.

On dissout les lipides insolubles dans l'Acétone au moyen de cette solution éthérée de Cholestérol. Ce mélange est ajouté aux 100 cc d'extrait alcoolique. Le tout est introduit dans un flacon fermé; on agite soigneusement et on dispose pendant une heure au bain-marie à 55° pour faciliter la dissolution. On débouche alors le flacon pour faire

évaporer les dernières traces d'Ether. On le rebouche et on l'abandonne à la température ambiante pendant 2 jours en agitant fréquemment. Finalement, on passe à travers un filtre lavé à l'Ether; le filtrat est conservé à la température du laboratoire dans un flacon brun. Pour l'analyse on prélève le liquide surnageant sans remettre le dépôt en suspension.

En nous référant aux travaux de Bessière *et ses collaborateurs*, nous avons préparé trois types d'antigène par extraction aqueuse. A ce sujet, nous avons cultivé à 27° *Candida triadis*, *C. albicans* et *C. kruseï* en milieu de Sabouraud glucosé liquide; nous avons contrôlé le stade optimal de formation des blastospores de ces cultures qui était respectivement de 4, 6 et 10 jours pour les trois champignons. A ce moment, nous avons filtré à travers une toile; le filtrat contenant surtout des blastospores est centrifugé, lavé à trois reprises au moyen de soluté physiologique, puis nous avons passé à la déshydratation dans le vide sous l'Anhydride phosphorique. Le résidu est pulvérisé et sert à préparer les trois types d'antigène.

Pour ce faire, il est pesé et fractionné en trois parties, dont l'une est employée pour préparer *un antigène par congélation et décongélation.* Nous avons utilisé à ce sujet 12 g de blastospores qui sont mis en suspension dans 120 cc de soluté physiologique, puis on passe à la congélation et décongélation de cette suspension à —20° et +40°, dix fois de suite. Ces manipulations sont effectuées dans un laps de temps de 48 heures. Finalement on centrifuge et le filtrat devant servir d'antigène est passé sur bougie L 3.

La seconde fraction de poudre de blastospores est mise en suspension dans 120 cc de soluté physiologique et disposée à 37° pendant 3 jours en agitant de temps en temps. On centrifuge et filtre le surnageant. Le filtrat est ramené à 120 cc au moyen de soluté physiologique. Ce liquide constitue *le deuxième antigène.*

Un troisième antigène a été préparé en broyant mécaniquement 12 g de poudre de blastospores préalablement lavée à l'Acétone glacée et lyophilisée avec 12 g de sable desséché pendant une heure. Une triple extraction est alors pratiquée avec chaque fois 20 cc d'eau distillée. On centrifuge sous refroidissement à 6 000 t/m. Les surnageants sont réunis et ensuite complétés à 120 cc au moyen d'eau distillée, puis on centrifuge et on filtre sur bougie L 3 stérilisée pendant 1 heure à 180° au *four Pasteur.* Finalement, on prépare une solution isotonique en y ajoutant 1,08 g de Chlorure de sodium, renfermant environ 1 g °/₀₀ de protéines totales, dosées par la méthode du biuret.

Notons que Bessière *et ses collaborateurs ont préparé un quatrième antigène* d'après la technique de A. et G. Hollande (46), qu'ils désignent par le nom de *vaccin chromosmié;* un antigène ainsi préparé a été employé *pour la sérologie du Bacille tuberculeux.* Comme il n'a pas donné de résultats favorables à Bessière, nous avons renoncé à sa préparation.

Nous avons jugé nécessaire d'étudier préalablement le pouvoir hémolytique spontané ou anticomplémentaire de *ces trois antigènes* et avons

ainsi pu constater que seul *l'antigène aqueux* n° 3 (broyage) répond aux conditions exigées d'un antigène.

Les dosages préliminaires ont été effectués avec des dilutions d'antigène de 1/5 à 1/1000 et la suspension antigénique la plus active pour les trois champignons était la suivante :

Candida triadis 1/70
Candida albicans .. 1/75
Candida kruseï 1/70

PREPARATION D'UN IMMUNSERUM PAR VACCINATION DES LAPINS :

Trois séries de chaque fois deux lapins mâles de 2 kg environ ont été mises en expérience. Chaque animal a fait l'objet d'un examen préalable par prélèvement buccal, génital et fécal pour contrôler s'il n'est pas un *porteur sain de Candida albicans.* Les six lapins ont reçu quatre injections intraveineuses de l'antigène aqueux n° 3 à 4 jours d'intervalle et aux doses suivantes : 0,5 cc, 1 cc, 1,5 cc, 2 cc. Trois semaines après la dernière injection, le sang est prélevé par ponction de la veine marginale de l'oreille.

Les réactions sérologiques sont effectuées avec le sérum obtenu de la façon suivante : On laisse reposer le sang pendant 2 à 3 heures à la température du laboratoire, puis on dispose pendant 12 heures à la glacière. On centrifuge et on décante le sérum qui est inactivé par chauffage à 56° pendant 30 minutes. Ce sérum est ensuite congelé pour la conservation.

Deux mois après la dernière injection vaccinale, nous avons procédé à une injection de rappel au moyen de 1,5 cc d'antigène n° 3.

Réaction de déviation du complément :

Nous avons effectué cette réaction d'*après le principe de Kolmer*; à cet effet, nous avons eu recours aux réactifs suivants :

— *Antigène* préparé « in vitro » suivant la technique donnée précédemment pour l'antigène aqueux n° 3;

— *Anticorps* : immunsérum de lapin.
sérum du malade.

Soluté physiologique : Solution de Chlorure de sodium à 9 °/₀₀ dans l'eau distillée, préparée extemporanément.

— *Globules rouges de mouton :* Sang recueilli sur le réactif citraté-formolé; on agite pour empêcher la coagulation, on laisse reposer pendant 24 heures à la glacière; on remet en suspension, on centrifuge et le culot de globules est lavé trois fois dans du soluté physiologique. Finalement, on prépare une suspension d'hématies de mouton à 2 % dans le soluté physiologique.

— *Sérum hémolytique de lapin de l'Institut Pasteur* à la dilution de de 1/400.

— *Complément lyophilisé de l'Institut Pasteur.*

Titrage du complément du jour :

Ce titrage est effectué au moyen de quatre séries de sept tubes :
Première série : *Antigène triadis* à la concentration de 1/70;
Deuxième série : *Antigène albicans* à la concentration de 1/75;
Troisième série : *Antigène kruseï* à la concentration de 1/70;
Quatrième série : Témoin où l'antigène est remplacé par le soluté physiologique.

Cette technique devait nous permettre de déterminer *le pouvoir anticomplémentaire des trois antigènes.* On sait que *l'unité de complément* est la plus petite quantité de complément provoquant l'hémolyse dans un tube de la gamme en expérience. Le protocole de cet essai ressort du tableau ci-joint.

TABLEAU N° 3

Réactifs :	Tubes N°						
	1	2	3	4	5	6	7
Complément 1/50	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40
Sol. physiologique	0,30	0,25	0,20	0,15	0,10	0,05	
Antigène à la dilution voulue	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
45 minutes au bain-marie à 37°							
Sérum hémol. 1/400	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10		
Suspension d'hématies 2 %.	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10		
45 minutes au bain-marie à 37°							

Nous avons obtenu l'hémolyse totale à partir du tube n° 4 pour la série témoin, du tube n° 5 pour la première série, du tube n° 4 pour la deuxième série et du tube n° 6 pour la troisième série.

Il faut en conclure que *l'antigène triadis*, à la concentration employée par nous, possède un certain pouvoir anticomplémentaire. *L'antigène kruseï* est très anticomplémentaire et *l'antigène albicans* est dépourvu de cette action.

D'après ce que nous venons de dire, on voit que pour *l'antigène albicans* nous avons obtenu l'hémolyse avec 0,25 cc d'une dilution de complément à 1/50. Dans la réaction définitive nous devons employer le complément au volume de 0,4 cc, par conséquent il faudrait employer une dilution de 1/80.

Le même raisonnement peut s'appliquer aux deux autres antigènes, c'est-à-dire que pour *l'antigène triadis* nous emploierons une dilution de 1/66 et pour *l'antigène kruseï* une dilution de 1/57.

Etant donné que dans la réaction définitive en présence du sérum, il faut utiliser deux unités de complément, nous aurons les dilutions suivantes : *Antigène albicans* 1/40; *antigène triadis* 1/33 et *antigène kruseï* 1/28.

Cependant, *les antigènes triadis et kruseï* ayant montré un certain pouvoir anticomplémentaire, nous avons été obligé d'augmenter la concentration du complément que nous avons portée à 1/30 pour le premier cas et à 1/25 pour le second cas.

REACTION DEFINITIVE :

Cette réaction est également effectuée avec sept tubes d'après le schéma suivant :

TABLEAU N° 4

Réactifs	Tubes N°						
	1	2	3	4 TS	5 TA	6 TSH	7 TGR
Immunsérum inactivé	0,05	0,05	0,05	0,05	—	—	—
Antigène triadis	0,10	—	—	—	0,10	—	—
Antigène kruseï	—	0,10	—	—	—	—	—
Antigène albicans	—	—	0,10	—	—	—	—
Soluté physiologique			—	0,10	0,05	0,15	0,65
Complément aux concentrations titrées	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	—
15 à 18 heures à 6°-7°, puis 10 minutes à 37°							
Sérum hémolytique 2 U/0,1 cc	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	—
Suspension d'hématies 2 %.	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Bain-marie à 37° — Lecture après hémolyse totale des témoins							

Légende : TS = Témoin sérum.
TA = Témoin antigène.
TSH = Témoin système hémolytique.
TGR = Témoin globules rouges.

Ces réactions ont été spécifiques et ont montré qu'il y avait *déviation du complément avec l'immunsérum correspondant à chaque antigène.*

A la suite de ces constatations, nous avons effectué une nouvelle série d'expériences en pratiquant des réactions croisées entre les trois sortes d'immunsérum et les trois antigènes selon le protocole suivant :

TABLEAU N° 5

Réactifs	Tube N° 1	2	3	4 TST	5	6	7	8 TSK	9	10	11	12 TSA	13 TAT	14 TAK	15 TAA	16 TSH	17 TGR
Sérum lapin triadis	0,05	0,05	0,05	0,05													
Sérum lapin kruséï					0,05	0,05	0,05	0,05									
Sérum lapin albicans									0,05	0,05	0,05	0,05					
Antigène triadis	0,10				0,10				0,10				0,10				
Antigène kruseï		0,10				0,10				0,10				0,10			
Antigène albicans			0,10				0,10				0,10				0,10		
Soluté physiologique				0,10				0,10				0,10	0,05	0,05	0,05	0,15	0,65
Complément 2 U/0,4 cc	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40
15 à 18 heures à 6°-7°, puis 10 minutes à 37° bain-marie																	
Sérum hémolytique 2 U/0,1 cc	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Suspension d'hématies 2 %.	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Bain-marie à 37° — Lecture après hémolyse totale des témoins																	
Résultats.	+++	+	++		++	+++	++	—	++	+	+++	+	—	—	—	—	+++

Légende : TST : Témoin sérum triadis;
TSK : Témoin sérum kruseï;
TSA : Témoin sérum albicans;
TAT : Témoin antigène triadis;
TAK : Témoin antigène kruseï;
TAA : Témoin antigène albicans;
TSH : Témoin sérum hémolytique;
TGR : Témoin globules rouges.

Interprétation :

En considérant ces résultats, on constate que les trois immunsérums donnent *des réactions positives quantitativement plus marquées pour l'antigène homologue correspondant;* cependant, dans les trois séries d'expériences, la *déviation du complément* est positive pour les trois espèces mises en jeu et *la spécificité des différents Candida* semble peu marquée. C'est pour cette raison que nous avons repris ces recherches sérologiques en employant cette fois-ci *la technique* de DIACONO (47) qui semble plus adaptée à la sérologie des mycoses.

Nous avons procédé au dosage préliminaire du complément en employant des dilutions progressivement croissantes de sérum de cobaye.

Les doses étaient les suivantes :

Sérum de cobaye dilué en progression géométrique ($r = 0,9$) . .	0,4 cc
Soluté physiologique à 9 %	1,4 cc
Suspension d'hématies de mouton à 4 %	0,8 cc

On dispose 30 minutes au bain-marie à 37° et la dernière dilution qui donne l'hémolyse correspond à la dose minimale hémolytique (D.M.H.).

La réaction proprement dite est effectuée d'après le schéma suivant :

Antigène aux dilutions de 1/2 à 1/1.000	1,2 cc
Complément D.M.H.	0,4 cc
Immunsérum 1/10	0,2 cc
Fixation pendant 12 heures à la glacière à 4°, puis addition de :	
Système hémolytique	0,8 cc

On dispose 30 minutes au bain-marie à 37° et on procède à la lecture par rapport à un tube témoin dépourvu d'antigène.

Notons que pour cette deuxième série d'expériences, nous avons préparé un quatrième antigène aqueux de *Candida parapsilosis;* la réaction de déviation du complément est effectuée avec *l'immunsérum antitriadis naturel.* puis dilué à 1/4 et 1/10. Nous avons ainsi obtenu les résultats suivants :

Sérum triadis naturel + antigène triadis . .	+ + + +
Sérum triadis 1/4 + antigène triadis	+ + + +
Sérum triadis 1/10 + antigène triadis	+ + + +
Sérum triadis naturel + antigène albicans . .	+ + + +
Sérum triadis 1/4 + antigène albicans . . .	+ +
Sérum triadis 1/10 + antigène albicans	+
Sérum triadis naturel + antigène kruseï . .	+
Sérum triadis 1/4 + antigène kruseï	—
Sérum triadis 1/10 + antigène kruseï	—

Sérum triadis naturel + antigène parapsilosis +
Sérum triadis 1/4 + antigène parapsilosis.. ±
Sérum triadis 1/10 + antigène parapsilosis —

On voit ainsi que la déviation du complément donne un résultat positif pour Candida triadis à un taux nettement supérieur à celui des réactions croisées avec les Candida albicans, kruseï et parapsilosis. Pour l'antigène albicans, les réactions sont décroissantes en rapport direct avec les taux d'immunsérum antitriadis employés. S'il existe des fractions antigéniques communes entre les quatre espèces de Candida éprouvées, on peut les différencier nettement par la méthode quantitative de DIACONO. Les fractions antigéniques de Candida triadis communes à Candida albicans doivent être plus proches et plus nombreuses qu'avec Candida kruseï et Candida parapsilosis.

Il faut en conclure que la technique quantitative de DIACONO est effectivement plus propice à la réaction de déviation du complément que la méthode de KOLMER en ce qui concerne le diagnostic d'affections mycosiques. C'est pour cette raison que nous avons eu recours à elle pour contrôler la présence d'anticorps mycosiques dans le sérum du malade.

Nous avions à notre disposition *trois échantillons de sang prélevés sur le malade* avant l'intervention chirurgicale, puis 1 mois et 4 mois après l'ablation du granulome. Les réactions étaient également effectuées avec le sérum naturel, puis dilué à 1/4 et 1/10. Nous exprimons les résultats dans le tableau suivant :

TABLEAU N° 6

Prélèvement N°	Antigène											
	triadis			albicans			kruseï			parapsilosis		
	1/1	1/4	1/10	1/1	1/4	1/10	1/1	1/4	1/10	1/1	1/4	1/10
1	+++	+++	+++	++	- -	—	+	—	—	+	—	—
2	+++	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	+	—	—
3	+++	+++	+++	++	++	+	—	—	—	—	—	—

On voit ainsi que la réaction de déviation du complément au moyen du sérum du malade est beaucoup plus spécifique que celle effectuée avec les immunsérums de lapin. Le taux de déviation du complément est nettement supérieur pour l'antigène provenant de l'organisme isolé du malade *(triadis)* que pour les trois autres antigènes. D'autre part, les réactions croisées avec l'antigène kruseï et parapsilosis sont seulement positives (+) avec le sérum natif et se négativisent quatre mois après l'intervention chirurgicale. La réaction croisée avec l'antigène albicans est au début légère-

ment plus faible avec le sérum natif et totalement négative avec le sérum dilué. Après l'intervention chirurgicale les fractions antigéniques communes avec Candida albicans semblent augmentées et leur taux se maintient encore après 4 mois; cependant, en employant le sérum dilué, on note une diminution importante de ces fractions communes.

S'il existe une spécificité plus grande pour Candida triadis, il faut cependant insister sur le fait que la réaction de déviation du complément reste positive longtemps après élimination du foyer infectieux pour les organismes du groupe du germe responsable.

Réaction d'agglutination :

Le sérodiagnostic est effectué au moyen de la technique de micro-agglutination. Cette réaction sérologique permet de mettre en évidence les anticorps agglutinants contenus éventuellement dans un sérum. La technique consiste à mettre en présence l'antigène organisé et le sérum provenant d'un patient. Cette réaction doit toujours être accompagnée d'une série-test au moyen d'un sérum normal.

Nous avons préparé quatre séries de 8 tubes à hémolyse; dans la première, nous avons employé *le filtrat de blastospores de Candida triadis* avec des dilutions de sérum de malade de 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800, 1/1600, 1/3200. La seconde série a *comme antigène le filtrat de blastospores de Candida kruseï*, la troisième série *le filtrat de blastospores de Candida parapsilosis* et la dernière série est préparée avec *le sérum témoin normal et l'antigène triadis.* La réaction est effectuée d'après le schéma suivant :

TABLEAU N° 7

Réactifs gouttes	Tubes N°								
	1	2	3	4	5	6	7	8	
Antigène triadis ..	16	18	19	20	1	20	20	20	20
Sérum du malade au 1/10e	4	2	1	0	39	20	20	20	à rejeter
Dilution du sérum	1/50	1/100	1/200	Témoin	1/400	1/800	1/1600	1/3200	

TABLEAU N° 8

Réactifs gouttes	Tubes N°							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Antigène triadis	16	18	19	20				
Antigène kruseï					16	18	19	20
Sérum du malade au 1/10e					4	2	1	0
Sérum normal au 1/10e	4	2	1	0				

Les résultats de ce sérodiagnostic sont illustrés par deux photographies.

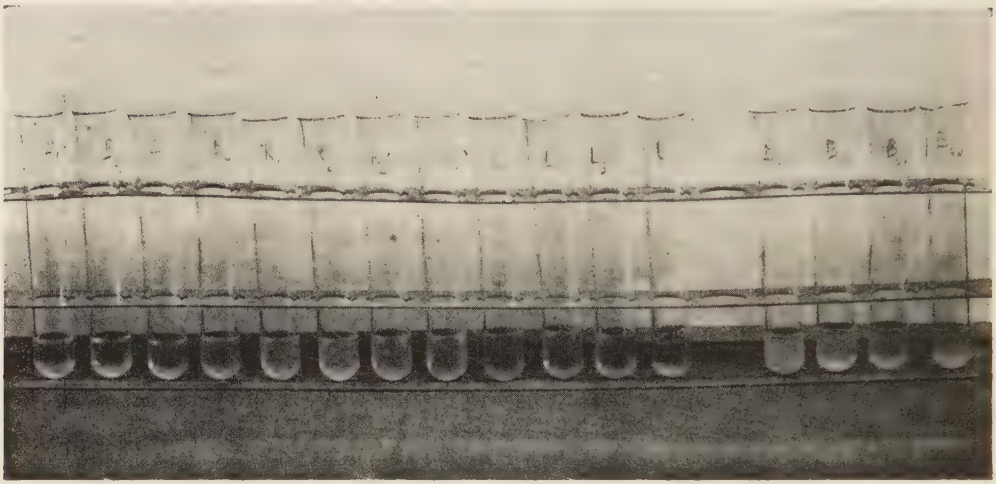

Fig. n° 16. — *Réaction d'agglutination* aux dilutions de 1/50 — 1/100 — 1/200 et 1/400. B = Candida triadis (Blum) ; K = Candida kruseï ; I = Candida parapsilosis. A droite les 4 tubes témoins.

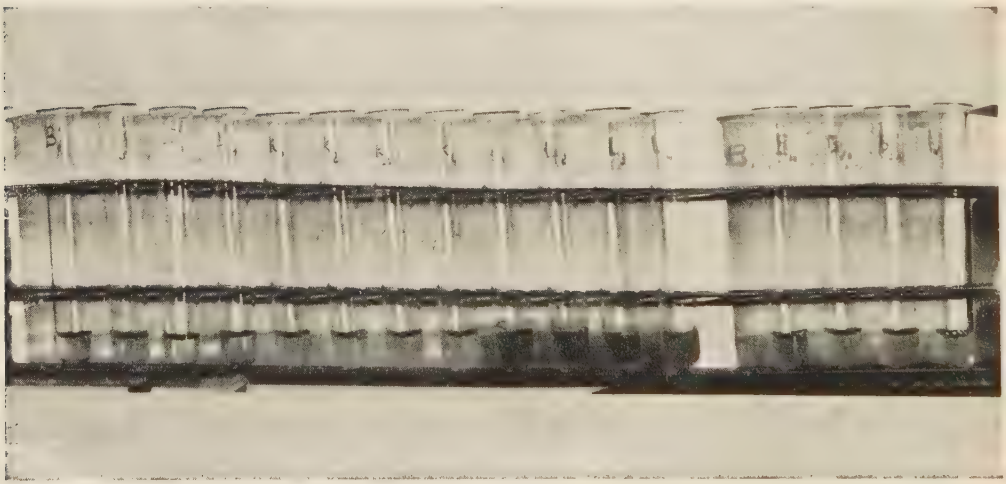

Fig. n° 17. — Réaction d'agglutination aux dilutions 1/400 — 1/800 — 1/1600 — 1/3200. Le marquage des tubes est identique.

Comme on le voit, l'agglutination de la suspension de *Candida triadis* est positive jusqu'à la dilution de 1/3200; celle de *Candida parapsilosis* est positive jusqu'à 1/400 et celle de *Candida kruseï* est négative dans l'ensemble. On constate ainsi que la réaction d'agglutination est positive

pour le *Candida isolé du malade* et faiblement positive pour *Candida parapsilosis.*

Les mêmes réactions ont été pratiquées au moyen de l'immunsérum de lapin préparé avec *Candida triadis*; elles ont été positives jusqu'à 1/800 avec *l'antigène triadis* et jusqu'à 1/50 et 1/100 pour les trois antigènes témoins.

Un mois après l'intervention chirurgicale, nous avons répété *la réaction de sérodiagnostic* avec des résultats identiques. Ces réactions prouvent que l'agent infectieux *que nous avons pu isoler à partir des urines et des sécrétions prostatiques* et qui a été mis en évidence dans les coupes histologiques est *du genre Candida et se différencie du groupe de Candida kruseï;* d'autre part, étant donné le taux nettement plus élevé de ces réactions pour *le Candida triadis par rapport à Candida albicans type,* nous pouvons conclure qu'il a des caractères antigéniques spécifiques prouvant ses propriétés pathologiques.

A propos des réactions immunologiques, nous tenons à citer une récente publication de Drouhet et Segretain (48) qui disent :

« On distingue les infections à *Candida superficielles,* localisées aux muqueuses et aux téguments, et *les infections profondes viscérales ou généralisées.* L'interprétation des réactions immunologiques est difficile, du fait que *les Candida sont des champignons endogènes,* saprophytes habituels de l'intestin. *Les agglutinines anticandida* ont fait l'objet de très nombreuses études et suivant les auteurs (Todd, 1937; Drake, 1945; Norris et Rawson, 1947; Fuentes, etc.), les sujets normaux agglutinent *les suspensions de Candida albicans* dans les proportions variant de 22 % à 89 %. Toutefois, les titres les plus élevés s'observent au cours des infections cliniques manifestes. Récemment, Akiba (49) utilisant *des Levures chauffées* pour l'agglutination et *un antigène polysaccharidique* purifié pour des réactions de précipitation ou d'allergie cutanée, obtient 80 à 92 % de réactions positives dans *les candidoses profondes;* par contre, dans les infections superficielles, ce pourcentage est très réduit.

« *L'intradermoréaction à la Candidine* n'a pas de valeur de diagnostic dans une infection *à Candida,* car une forte proportion d'individus sains répondent positivement. »

En ce qui concerne notre cas, *on n'a pas eu recours à ce test d'allergie.*

Par contre, Sclafer et Hewitt (50) émettent l'opinion suivante à ce sujet :

« *L'étude des tests cutanés et des réactions focales* est encore le seul moyen de reconnaître *l'allergie à Candida albicans,* car les tests biologiques sont pauvres et incertains, contrairement à ceux de *l'allergie trichophytique. L'épreuve de* Prauschnitz-Küstner est négative comme il est de règle dans les allergies de type tissulaire. Il est regrettable qu'elle n'ait pas été pratiquée dans les cas où les réactions cutanées sont de type urticarien, car Sulzberger, puis Jadassohn ont réussi une transmission passive dans des observations d'allergie trichophytique avec test cutané à réaction précoce urticarienne.

« *Les réactions d'agglutination et de précipitation* ne sont d'aucun secours. *La réaction de déviation du complément* aurait donné entre les mains de Negroni des résultats intéressants, mais aucune confirmation n'a été fournie de ce travail déjà ancien. Nous ignorons les raisons de cette carence des tests biologiques, mais il est possible de formuler une hypothèse : Ne serait-elle pas en rapport avec les relations ambivalentes de l'organisme avec *Candida albicans*, tantôt saprophyte, tantôt pathogène ? Lorsque pathogène, ce champignon provoque une infection et son comportement se rapprocherait de celui *du Bacille tuberculeux ou d'un Trichophyton* suscitant une allergie d'infection de type tissulaire dont les anticorps absents des humeurs se révèlent surtout par des tests cutanés tardifs. »

A cette opinion, on peut opposer celle de Drouhet et Segretain d'après laquelle *les champignons pathogènes sont moins antigéniques que les bactéries ou les virus*, car les anticorps circulants exprimés par le titre d'anticorps sont généralement très bas. Les réactions antigène-anticorps survenant au cours des mycoses sont mesurées par *des réactions d'agglutination, de précipitation, de fixation du complément et d'immuno-fluorescence.* Dans les mycoses profondes, *l'allergie cutanée* apparaît la première, suivie des *agglutinines et des précipitines* qui disparaissent ensuite. *les anticorps fixant le complément* apparaissant plus tard, mais persistant plus longtemps. Il y a intérêt à doser les anticorps sur deux échantillons de sérum, au début et en cours d'infection. La préparation *des antigènes standard* est actuellement loin d'être parfaite, car les réactions sérologiques d'immunité sont de faible intensité et les réactions croisées très fréquentes entre divers groupes de champignons. Le diagnostic d'une mycose repose en premier lieu sur *l'isolement du champignon en culture*, ensuite sur les tests d'allergie cutanée et enfin sur les réactions sérologiques; des progrès récents concernant *la préparation des antigènes* doivent permettre d'augmenter la sensibilité et la spécifité de ces réactions afin de les rendre plus utiles pour le diagnostic.

Nous croyons avoir pu apporter une contribution utile à ce dernier problème en démontrant que *le sérodiagnostic d'agglutination* doit être effectué avec *une suspension de blastospores standardisés et que la réaction de déviation du complément* devient beaucoup plus spécifique *pour le groupe donné et pour les espèces de Candida de ce groupe* en employant *la technique de* Diacono modifiée et, comme antigène, le broyat aqueux, confirmant ainsi les travaux de Bessière *et ses collaborateurs.*

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons pu recueillir une observation de *mycose testiculaire*, étudiée au point de vue *anatomo-pathologique*, *histobactériologique et sérologique*, études que nous avons rapportées au cours de notre travail.

Il s'agit d'un homme de 70 ans, cultivateur, qui consulte un médecin le 7 août 1959, pour un gros testicule droit avec gros épididyme, évoluant depuis de nombreux mois sans régression, malgré différents traitements, augmentant même de volume. Le malade n'a pas de température; au toucher rectal, la prostate est augmentée de volume; les urines sont claires, mais contiennent de fortes traces d'albumine.

Le 14 août, on procède (E. BLUM) *à une semi-castration* pour suspicion de tumeur du testicule. *L'examen histologique pratiqué à l'Institut d'Anatomie pathologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg* (A. BATZENSCHLGER) donne le résultat suivant :

« Il ne s'agit pas d'une tumeur du testicule, mais d'une fausse tumeur inflammatoire, à savoir : une orchite chronique histiocytaire résorptive. De très nombreux tubes séminifères ont leur syncytium sertolien totalement ou presque entièrement détruit et remplacé par un granulome chronique à prédominance histiocytaire, rarement giganto-cellulaire, fortement sclérogène et contenant quelques infiltrats lymphocytaires et plasmocytaires. On retrouve ces infiltrations mononucléaires dans le tissu intersticiel épaissi par la sclérose. Par ailleurs, vaginite subchronique avec épanchement fibrineux exsudatif. L'étiologie de cette lésion inflammatoire doit être recherchée dans une infection banale traînante. Absence de tout signe histologique de malignité dans le matériel examiné. »

Avant l'intervention chirurgicale, les examens biologiques ont été effectués et se sont montrés sans particularité, en dehors de *la vitesse de sédimentation* qui est fortement accélérée (40/70).

A l'examen de contrôle pratiqué le 29 septembre, on constate du côté non opéré une tuméfaction molle de l'épididyme; la vitesse de sédimentation est toujours accélérée et l'albuminurie n'a pas régressé. A la suite de ces constatations, l'on a pratiqué un prélèvement aseptique des urines et des sécrétions prostatiques, qui montre à l'examen direct et cultural la présence *d'un Blastomycète* avec une flore de surinfection assez variée.

L'examen *histo-microscopique* est alors repris avec une méthode de coloration spécifique pour *les Blastomycètes* : il s'agit de *la technique de* GRIDLEY modifiée, combinant la méthode de GOMORI *(coloration aldéhyde-fuchsine)* à celle de HOTCHKISS et Mac MANUS *(coloration à l'acide périodique + leucofuchsine)*. L'avantage de cette méthode réside dans le fait que les cellules tissulaires ne se colorent que très faiblement par rapport aux éléments mycosiques. Nous avons ainsi pu constater la présence d'éléments ronds ou ovalaires se colorant nettement par la méthode de GRIDLEY et qui se trouvaient surtout localisés dans le syncytium sertolien des tubes séminifères. Il s'agit de *Blastomycètes intracellulaires prouvant histologiquequement une blastomycose chronique du testicule.*

A titre de comparaison nous avons effectué des colorations de HOTCHKISS et Mac MANUS sur les sédiments urinaires, l'éjaculat et le liquide d'expression de la prostate, ainsi que sur leur culture. De la sorte nous avons obtenu les mèmes images que celles de la coupe histologique.

Des microphotographies illustrent cette partie de notre travail. D'après ces microphotos, on se rend compte qu'il s'agit *d'un Blastomycète*, c'est-à-*dire d'un champignon levuriforme anascosporé*. Ce fait a été contrôlé sur *milieu de Gorodkowa et sur bloc de plâtre humide*. L'étude des caractères macroscopiques, biochimiques et biologiques a été effectuée d'après les données de LODDER et KREGER-Van RIJ et de COUDERT; elle permet de ranger l'organisme parmi *les Candida*. Le zymogramme et l'auxanogramme ainsi que les autres caractères biochimiques nous ont permis de le déterminer comme étant *Candida triadis, proche voisin de Candida albicans.*

Parallèlement, nous avons effectué *une étude sérologique de ce champignon*; celle-ci a été faite avec *le sérum du malade même et avec le sérum de lapins vaccinés* au moyen de l'organisme isolé. A ce sujet, nous avons préparé plusieurs antigènes, soit par extraction acétono-alcoolique, soit par broyage aqueux selon les indications de BESSIÈRE. D'autre part, nous avons eu recours *aux réactions d'agglutination*, dont nous donnons également des photographies.

Ces réactions sérologiques ont été effectuées avec notre souche de *Candida triadis*, conjointement à *Candida kruseï* et *Candida parapsilosis;* les tubes témoins contenaient la suspension *de Candida triadis* sans immunsérum.

Les agglutinations ont été faites à des taux de dilution de 1/50, 1/100, 1/200, 1/400, 1/800 1/1600, 1/3200. Comme on le voit sur les photos (nos 16 et 17), l'agglutination de la suspension de *Candida triadis* était positive jusqu'à la dilution de 1/3200; celle de *Candida parapsilosis* jusqu'à la dilution de 1/400; celle de *Candida kruseï* était négative dans l'ensemble.

Les réactions de déviation du complément ont été effectuées au moyen de *la méthode de Kolmer*, en employant l'antigène-broyat de *Candida triadis*, de *Candida kruseï, C. parapsilosis et C. albicans*. Ces réactions ont été pratiquées d'un côté avec *le sérum du malade*, et de l'autre avec le sérum de *quatre lapins immunisés* respectivement avec chacun des germes par injection progressivement croissante, à intervalle de quatre jours, avec un

repos de 8 jours avant la prise de sang. Après titration du pouvoir anti-complémentaire, les réactions sérologiques ont donné les résultats suivants :

Sérum triadis + antigène triadis ..... + + + +

Les réactions croisées au moyen des antigènes hétérologues étaient nettements plus faibles ou négatives.

On constate que *la réaction d'agglutination* est positive pour le germe isolé et faiblement positive pour *Candida parapsilosis*. Les réactions sérologiques avec le sérum du malade sont restées positives au même titre pendant 4 mois après ablation du granulome. Quant à *la déviation du complément*, le résultat est également positif pour *Candida triadis*, à un taux supérieur qu'à celui des réactions croisées avec les *Candida parapsilosis et kruseï*.

Les réactions de séro-diagnostic prouvent que l'agent infectieux que nous avons pu isoler à partir des urines et des sécrétions prostatiques et qui a été mis en évidence dans les coupes histologiques est du *genre Candida et de l'espèce Candida triadis* d'après les déterminations biochimiques.

Ce cas est le second, nettement caractérisé et connu juqu'à présent, *d'une orchi-épididymite chronique granulomateuse histiocytaire due à un Candida*. Le premier cas a été décrit par Bontke; sa publication a attiré l'attention de E. Blum et J. Meyer. Ces infections mycosiques sont rares dans la littérature; comme Bontke le mentionne, Clarke a observé, en étudiant 115 cas de *maduro-mycoses tropicales*, un seul cas de *granulome mycosique* localisé sur les testicules. Bontke a trouvé quelques observations cliniques *d'orchite chronique granulomateuse* d'étiologie inconnue, dont l'image clinique et histologique, comparable à celle de son cas, peut laisser supposer une infection mycosique. Dans tous les cas, il s'agit, comme dans le nôtre, d'hommes âgés de plus de 50 ans. La voie d'entrée de l'agent infectieux reste jusqu'à présent inconnue, mais aucun de ces auteurs n'a recherché *l'infection mycosique*, et Bontke suppose qu'il pourrait s'agir d'une pénétration ascendante; il fait cependant remarquer que cette hypothèse est controversée par l'absence de *lésions mycosiques* dans l'épididyme et les canaux séminifères dans son cas.

Notre observation apporte peut-être une preuve à la théorie ascendante, puisqu'il s'agit d'*une orchi-épididymite chronique histiocytaire et gigantocellulaire résorptive à Blastomycètes*.

Nous tenons donc à attirer l'attention sur la nécessité, dans des cas analogues, de contrôler l'origine mycosique éventuelle de l'infection.

BIBLIOGRAPHIE

(49) Akiba. — Immunological diagnostic of moniliase, 6e Congrès Intern. Méd. trop. et Palud. Lisbonne, 1958.

(1) Benedek T. — Cité par Grumbach et Kikuth : Die Infektionskrankheiten des Menschen. Thieme, Stuttgart, 1958, p. 1479.

(45) Bessiere, Rioux, Bastide et Bastide. — Soc. Pharm. Montpellier, Séance du 15 juin 1959, p. 69.

(23) Blum E. et Batzenschlager A. — Presse Médicale, 1960, 68, p. 1235.

(7) Bontke E. — Zeit für Urologie, 1955, 48, 12, 787.
Brocq-Rousseau, Guilliermond et des Gilleuils. — Ann. Parasit. Humaine et Comparée, 1927, 5, 48.

(21) Burkholder P. — Amer. Journ. Bot., 1943, 30, 206.

(33) Castellani. — Journ. Trop. Med. and Hyg., 1937, 40, 293.

(32) Ciferi, Redealli et Cavallero. — Mycopathiologia, 1938, I, 115.

(9) Clarke E.R.R. — The Lancet, 1953, 265, II, 1341.

(17) Coudert J. — Guide pratique de Mycologie médicale, Masson, Paris, 1955, p. 251.

(2) Destombes P. — Soc. Française de Mycologie Médicale, 11 décembre 1959.

(47) Diacono. — Documentation du Biologiste praticien, 1950, n° 3, 191.

(30) Diddens et Lodder. — Die anaskosporogenen Hefen, Amsterdam, 1942. p. 146.

(11) Dieterle R. — Schweiz. Zeitschr. allgem. Pathologie, 1950, 8, 3, 265.

(40) Doughty et Hedrick. — Bact. Proc U.S.A., 1956, 56, 7.

(48) Drouhet et Segretain. — Colloque Soc. Franç. Mycol. Méd., Marseille 1959 p. 1.

(6) Fekete Z. — Urologia Internationalis, 1959, n° 3-6, p. 247.

(43) Gargani G. — Boll. Soc. Biol. Speriment., 1957, 33, 53, 4.

(42) Goldin M. — Bact. Proc. U.S.A., 1957, 106.

(18) Gorodkowa. — Bull. Jard. Botan. Petersburg, 1908, 1.

(5) Graciansky (de) P. et Delaporte J. — Accidents à Levures des traitements par les antibiotiques, Masson, Paris, 1956.

(8) Gridley M.F. — Amer. Journ. Clin. Path., 1953, 23, 303.

(12) Grunberg H. — Frankf. Zeitschr. Pathol., 1926, 33, 217.

(14) Hauser et Rothman. — Monilial granuloma, Arch. Derm. et Syph., 1950, 61, 2, 297.

(46) Hollande A. et Hollande G. — Arch. Zool. exp. et gén., 1948, 84, 375.

(35) Janke. — Arch. clin. exp. Derm., 1957, 206, 608.

(44) Keeney et Eriksen. — Journal Allergy, 1949, 20, 172.

(19) Kluyver A.J. et Custers M.Th. — Journ. Microbiol. Sérol., 1939-40, 6, 121.

(28) Langeron et Guerra. — Ann. Parasit. Paris, 1938, pp. 1, 36, 162, 429, 481 ; 1939, 17, p. 257.

(15) Langeron et Vanbreuseghem. — Précis de Mycologie, Masson, Paris, 1952.

(10) Lee W.R. et Nettleship A. — Journ. Urol. Baltimore, 1958, 67, 342.

(16) Lodder et Kreger-Van Rij. — The Yeasts, North-Holland Publishing Company, Amsterdam, 1952.

(31) Martin, Jones, Jaoyao, et Lee. — Journ. Bact., 1937, 34, 99.

(13) Moore. — Mycopathologia, 1948, 4, 3, 272.

(39) Peck S.M., Bergamini R. et coll. — Journ. Invest. Derm. 1959, 25, 301-310.

(36) Pospisil. — Dermatologia, 1959, 118, 65.

(3) Potier E. — Contribution à l'étude des Levures pathogènes. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg, 1949.

(37) Ravaut et Rabeau. — Nouvelle Pratique dermatol., Delagrave, Paris, 1936, T. II, p. 285.

(34) Rioux J.A., Bessiere C., Bastide J.M. et Bastide M. — Soc. Pharm. Montpellier, Séance du 15 juin 1959, p. 94.

(24) Rivalier E. et Seydel S. — C. R. Soc. Biol. 1932, 40, 131. — Ann. Parasit. Humaine et Comparée, 1932, 10, 444.

(25) Sartory A. — Les Champignons parasites de l'homme et des animaux, Ed. Clinique et Laboratoire, Paris, 1938.

(4) Sartory A. et Demanche. — C. R. Soc. Biol., 1907, 261. — Bull. Soc. Mycologie, 1907, 24, 4

(22) Schultz A.S. et Atkin L. — Arch. Biochem., 1947, 14, 369.

(26) Schürmann. — A propos des cultures de Dermatophytes. Préparation d'un milieu de choix synthétique. Thèse Doct. Pharm., Strasbourg, 1950.

(50) Sclafer et Hewitt. — Colloque Soc. Franç. Mycol. Méd.,, Marseille 1959, p. 35.

(41) Seeliger H. — Deutsche Med. Woch., 1957, 46, 1961-63.

(27) Stelling-Dekker N.M. — Die sporogenen Hefen, Verhandel, Koninkl. Akad, Wetenschap. Afd Naturkunde, 1931, 28, 1.

(20) Wickerham L.J. — Journ. Bact., 1946, 52, 293.

(38) Widal F., Abrami P., Joltrain E., Brissaud E. et Weil A. — Ann. Inst. Pasteur, 1910, 24, 1-33.

Vu, Strasbourg, le 21 mars 1961

Le Président du Jury,
R. SARTORY

Vu et approuvé :

Strasbourg, le 22 mars 1961

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie
P. DUQUÉNOIS

Vu et permis d'imprimer

Strasbourg, le 23 mars 1961

Le Recteur de l'Académie
Président du Conseil de l'Université
J.-F. ANGELLOZ

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION V

PLAN DE TRAVAIL IX

PREMIERE PARTIE — HISTORIQUE

CHAPITRE I

LES INFECTIONS A CANDIDA 1

CHAPITRE II

SYSTEMATIQUE DES GENRES LEVURIFORMES 9

DEUXIEME PARTIE — TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE III

OBSERVATION CLINIQUE D'UNE ORCHI-EPIDIDYMITE GRANULOMATEUSE PSEUDO-TUMORALE 19

Examen anatomo-pathologique 20

Technique de coloration de Hotchkiss et MacManus 25

CHAPITRE IV

CARACTERISATION DE L'AGENT LEVURIEN INFECTIEUX 29

Méthodes de culture et d'isolement 29

Culture sur lame 30

Culture en milieu au moût de bière 31

Culture en milieu de Sabouraud glucosé 31

Culture en stries sur moût de bière ou milieu de Sabouraud gélosés 33
Culture en piqûre 34
Contrôle de la formation des ascospores 34
Etude biochimique de notre organisme 35
Fermentation des différents sucres ou zymogramme 35
Assimilation des sucres ou auxanogrammes 36
Assimilation de l'alcool commè source unique de carbone 38
Contrôle de la dégradation de l'arbutine 38
Assimilation de l'azote 39
Culture en lait tournesolé 39
Contrôle de la liquéfaction de la gélatine 39
Formation des substances amylacées 40

CHAPITRE V

ETUDE IMMUNOLOGIQUE DE NOTRE CANDIDOSE 45
Préparation d'un immunsérum par vaccination des lapins 49
Réaction de déviation du complément 49
Interprétation 53
Réaction d'agglutination 55
CONCLUSIONS GENERALES 59
BIBLIOGRAPHIE 63

ACHEVÉ D'IMPRIMER
SUR LES PRESSES
DE L'IMPRIMERIE FABRÈGUE
A SAINT - YRIEIX
LE 25 AVRIL 1961

N° Imprimeur : 1223-4-61

Dépôt légal 2e trimestre 1961